

УДК 582:581(082)
ББК 28.59я43
И73

Редакционная коллегия:

д.б.н., чл.-корр. НАН Беларуси *В. В. Титок* (ответственный редактор),
к.б.н. *П. Н. Белый*; к.б.н. *И. М. Гаранович*; д.б.н. *Н. В. Гетко*;
к.б.н. *Л. А. Головченко*; *С. М. Кузьменкова*; д.б.н. *Е. Н. Кутас*;
к.б.н. *Н. М. Лунина*; к.б.н. *О. В. Чижик*; к.б.н. *А. П. Яковлев*

Рецензенты:

доктор биологических наук, Ботанический институт
имени В. Л. Комарова Российской академии наук *К. Г. Ткаченко*;
кандидат биологических наук, Институт экспериментальной
ботаники имени В. Ф. Купревича Национальной академии наук Беларуси
А. В. Пугачевский

Интродукция, сохранение и использование биологического разнообразия флоры : материалы международной научной конференции, посвященной 90-летию Центрального ботанического сада Национальной академии наук Беларуси (Минск, 28 июня – 1 июля 2022 г.). В 2 ч. Ч. 2 / Нац. акад. наук Беларуси [и др.]. редкол.: В.В. Титок [и др.] – Минск : Белтаможсервис, 2022. – 420 с.

ISBN 978-985-7004-75-1

В сборнике представлены материалы международной научной конференции, посвященной 90-летию Центрального ботанического сада Национальной академии наук Беларуси. Часть 2: секция 3 «Биотехнологические и молекулярно-генетические аспекты изучения и использования биоразнообразия растений», секция 4 «Решение вопросов защиты растений в ботанических садах», секция 5 «Научное, прикладное и просветительское значение ботанических коллекций» и секция 6 «Современные направления ландшафтного дизайна и зеленого строительства».

УДК 582:581(082)
ББК 28.59я43

ISBN 978-985-7004-75-1 (ч. 2)
ISBN 978-985-7004-72-0

© ГНУ «Центральный ботанический сад
Национальной академии наук Беларуси», 2022
© Оформление. РУП «Белтаможсервис», 2022

УДК 581.14.6

ВЫХОД ЖИЗНЕСПОСОБНЫХ ЭКСПЛАНТОВ ИНТРОДУЦИРОВАННЫХ СОРТОВ СУРФИНИИ И КАЛИБРАХОА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СПОСОБОВ ИХ СТЕРИЛИЗАЦИИ

Кутас Е. Н., Филипеня В. Л., Махонина О. И., Нехвядович А. В., Петралай О. Н.,
Аранович К. С.

*Центральный ботанический сад Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь
E. Kutas@cbg.org.by*

Резюме. Показано, что, из испытанных нами четырех способов (№ 1–№ 4) стерилизации, высокий выход (75–90 %) жизнеспособных эксплантов интродуцированных сортов сурфинии и калибрахоа, получен при использовании способа № 1, включающего обработку эксплантов 3 %-ным раствором фунгицида «Топаз» и 5 %-ным раствором гипохлорида натрия «Белизна» при экспозиции 15 минут для обоих соединений.

YIELD OF VIABLE EXPLANTS OF INTRODUCED VARIETIES OF SURFINIA AND CALIBRACHOA, DEPENDING ON THE METHODS OF THEIR STERILIZATION

Kutas E. N., Filipenya V. L., Mahonina O. I., Nekhvyadovich A. V., Petralai O. N.,
Aranovich K. S.

Summary. It is shown that, of the four methods of sterilization tested by us (No. 1-No. 4), a high yield (75–90 %) of viable explants of introduced varieties of surfinia and calibrachoa, was obtained using method No. 1, which includes treatment of explants with a 3 % solution of the fungicide «Topaz» and a 5 % solution of sodium hypochloride «Whiteness» at an exposure of 15 minutes for both compounds.

Введение. 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 способов стерилизации, включающих различные стерилизующие соединения, эффективность их концентраций, продолжительность времени обработки с целью освобождения материала от инфекции и получения высокого выхода жизнеспособных эксплантов.

Собственные исследования, а также исследования многочисленных авторов, показывают что, получение стерильного растительного материала представляет собой сложную задачу, успешное решение которой зависит от правильного выбора стерилизующего агента, его концентрации, времени экспозиции, типа и размера исходного экспланта, а также сроков введения в культуру.

Как свидетельствуют литературные источники, для стерилизации используют различные стерилизующие соединения с разной концентрацией и временем экспозиции [1–11].

Необходимо отметить, что для каждого вида растения или сорта оптимальный режим (способ) стерилизации, способствующий высокому выходу жизнеспособных эксплантов, определяется экспериментальным путем. Не являются исключением интродуцированные сорта сурфинии и калибрахоа.

Объекты и методы исследования. Объектами исследования служили шесть интродуцированных сортов сурфинии: *Surfinia x hybrida hort* «Purple», *Surfinia x hybrida hort* «Black prince», *Surfinia x hybrida hort* «Blue Vein», *Surfinia x hybrida hort* «Double Red», *Surfinia x hybrida hort* «Star Yellow», *Surfinia x hybrida hort* «Blue» и два сорта калибрахоа: *Calibrachoa x hybrida hort* «Kabloom deep blue», *Calibrachoa x hybrida hort* «Kabloom white».

В качестве эксплантов использовали почки с кусочком стебля длиной 5–6 мм, вычлененные с побегов выше перечисленных сортов. Для освобождения эксплантов от инфекции использовали

разработанные нами четыре способа стерилизации (№ 1-№ 4), включающие следующие этапы обработки:

Способ № 1

- промывание побегов мыльным раствором с последующим споласкиванием их проточной водопроводной водой в течение 10 минут;
- обработка побегов 3 %-ным раствором фунгицида («Топаз») в течение 15 мин с шестикратным промыванием водопроводной водой на протяжении 12 минут;
- стерилизация эксплантов 5 %-ным коммерческим препаратом гипохлорида натрия «Белизна» с добавлением 2–3 капель детергента «Tween 80» при экспозиции 15 минут с последующим их промыванием в трех сменах стерильной бидистиллированной воды по 10–15 мин в каждой.

Способ № 2

- промывание побегов мыльным раствором с последующим их споласкиванием проточной водопроводной водой в течение 10 минут;
- обработка эксплантов 70 %-ным этиловым спиртом (экспозиция 30 секунд) с последующим их промыванием в трех сменах стерильной бидистиллированной воды по 10–15 мин в каждой;
- стерилизация эксплантов 3 %-ным коммерческим препаратом гипохлорида натрия «Белизна» с добавлением 2–3 капель детергента «Tween 80» при экспозиции 15 минут с последующим их промыванием в трех сменах стерильной бидистиллированной воды по 10–15 мин в каждой.

Способ № 3

- промывание побегов мыльным раствором с последующим их споласкиванием проточной водопроводной водой в течение 10 минут;
- обработка эксплантов 70 %-ным этиловым спиртом (экспозиция 15 секунд) с последующим их промыванием в трех сменах стерильной бидистиллированной воды по 10–15 мин в каждой;
- стерилизация эксплантов 5 %-ным коммерческим препаратом гипохлорида натрия «Белизна» с добавлением 2–3 капель детергента «Tween 80» при экспозиции 30 минут с последующим их промыванием в трех сменах стерильной бидистиллированной воды по 10–15 мин в каждой.

Способ № 4

- промывание побегов мыльным раствором с последующим их споласкиванием проточной водопроводной водой в течение 10 минут;
- обработка эксплантов 70 %-ным этиловым спиртом (экспозиция 10 секунд) с последующим их промыванием в трех сменах стерильной бидистиллированной воды по 10–15 мин в каждой;
- стерилизация эксплантов 1 %-ным раствором азотнокислого серебра при экспозиции 10 мин с последующим их промыванием в шести сменах стерильной бидистиллированной воды по 15–20 мин в каждой.

После стерилизации материал высаживали на модифицированную агаризованную среду MS. Пробирки с высаженными эксплантами помещали на стеллажи, где температура воздуха составляла 24 °С, 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.

Результаты исследования. Цифры в Таблице свидетельствуют о зависимости выхода жизнеспособных почек интродуцированных сортов сурфинии и калибрахоа от способа стерилизации, концентрации стерилизующего соединения, времени экспозиции.

Высокий выход (80–90 %) жизнеспособных почек отмечен у интродуцированных сортов сурфинии и калибрахоа при использовании способа стерилизации № 1, включающего обработку почек мыльным раствором, 3 %-ным раствором фунгицида («Топаз») в течение 15 мин, 5 %-ным раствором гипохлорида натрия «Белизна» при экспозиции 15 минут.

Практически аналогичный выход (70–90 %) жизнеспособных эксплантов интродуцированных сортов сурфинии наблюдали при стерилизации 5 %-ным раствором «Белизна» с экспозицией 30 минут, используя способ № 3. Несколько ниже этот показатель (60–65 %) был отмечен у интродуцированных сортов калибрахоа *Calibrachoa x hybrida hort* «Kabloom white», *Calibrachoa x hybrida hort* «Kabloom deep blue» при этом же способе стерилизации.

Таблица. Жизнеспособность эксплантов, интродуцированных сортов сурфинии и калибрахоа в зависимости от способа их стерилизации

Сорт	Эксплант	Способ стерилизации											
		1-ый			2-ой			3-ий			4-ый		
		Ж	О	И	Ж	О	И	Ж	О	И	Ж	О	И
1. Surfinia x hybrida hort "Purple"	почки	18/90	0/0	2/10	11/55	7/35	2/10	14/70	4/20	2/10	6/30	14/70	0/0
2. Surfinia x hybrida hort "Black prince"	почки	17/85	3/15	0/0	12/60	8/40	0/0	18/90	0/0	2/10	4/20	16/80	0/0
3. Surfinia x hybrida hort "Blue Vein"	почки	14/70	4/20	2/10	11/55	5/25	4/20	14/70	3/15	3/15	6/30	12/60	2/10
4. Surfinia x hybrida hort "Double Red"	почки	17/85	2/10	1/5	10/50	6/30	4/20	16/80	2/10	2/10	4/20	15/75	1/5
5. Surfinia x hybrida hort "Star Yellow"	почки	16/80	2/10	2/10	12/60	6/30	2/10	14/70	4/20	2/10	6/30	13/65	1/5
6. Surfinia x hybrida hort «Blue»	почки	16/80	2/10	2/10	12/60	6/30	2/10	15/75	2/10	3/15	8/40	12/60	0/0
7. Calibrachoa x hybrida hort «Kabloom deep blue»	почки	16/80	3/15	1/5	10/50	6/30	4/20	13/65	4/20	3/15	4/20	12/60	3/15
8. Calibrachoa x hybrida hort «Kabloom white»	почки	15/75	2/10	3/15	10/50	7/35	3/15	12/60	3/15	5/25	5/25	12/60	3/15

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

Низкий выход (20–40 %) жизнеспособных эксплантов характерен для всех исследованных интродуцированных сортов сурфинии и калибрахоа без исключения, применяя способ стерилизации № 4, состоящий из обработки почек мыльным раствором, обработки эксплантов 70 %-ным этиловым спиртом (экспозиция 10 секунд), стерилизации эксплантов 1 %-ным раствором азотнокислого серебра при экспозиции 10 минут.

При использовании способа стерилизации № 2 исследованные сорта калибрахоа и сурфинии заняли промежуточное положение по показателю выхода жизнеспособных эксплантов, который составил 50–60 % соответственно.

Заключение. На основании анализа результатов экспериментальных исследований, полученных по изучению влияния четырех способов стерилизации № 1–№ 4 на выход жизнеспособных эксплантов у интродуцированных сортов сурфинии и калибрахоа, можно констатировать, что их выход зависит как от способа стерилизации, включающего тип стерилизующего соединения, его концентрацию, так и от сортовой принадлежности растения. Оптимальным способом стерилизации для исследованных интродуцированных сортов сурфинии и калибрахоа следует считать способ № 1 с использованием 3 %-ного раствора фунгицида «Топаз» и, 5 %-ного раствора гипохлорида натрия «Белизна» при экспозиции 15 минут для обоих соединений.

Высокая жизнеспособность эксплантов сурфинии и калибрахоа составила 75–90 % при использовании 1-го способа стерилизации; самая низкая жизнеспособность 20–40 % отмечена при использовании 4-го способа стерилизации. Промежуточное положение по показателю жизнеспособности 50–60 % и 60–90 % заняли 2-й и 3-тий способ стерилизации соответственно.

Список литературы

1. Sterilinanciu medziagu ir mitybos terpiu parinkimas meristeminiu metodu dauginamoms orchidejoms / V. Raskauskas [et al.] // Научные труды вузов Литовской ССР. Сер. биол. наук. – 1989. – Т. 27. – С. 36–42.
2. Шумихин, С. А. Оптимизация отдельных этапов микроклонального размножения георгины культурной: стерилизация эксплантов / С.А Шумихин // Вестник Пермского университета. – 2004. – № 2. – С. 61–63.
3. Рокитянская, Л. С. Поиск эффективных методов стерилизации зрелых зародышей ячменя / Л. С. Рокитянская // Биология – наука XXI века: материалы 9-й Международной Пущинской школы-конференции молодых ученых. – Пущино, 2005. – С. 190.
4. Badoni, A. In vitro sterilization protocol for micropropagation of *Solanum tuberosum* cv. 'Kufri Himalini' / A. Badoni, J. S. Chauhan // Academia Arena. – 2010. – Vol. 2, N 4. – P. 24–27.
5. In vitro sterilization procedures for micropropagation of 'Oblačinska' sour cherry / I Mihaljević [et al.] // Journal of Agricultural Sciences. – 2013. – Vol. 58, N 2. – P. 117–126.
6. Жумагулова Ж. Б., Фролов С. Н. Способы стерилизации эксплантов груши при введении в асептическую культуру // Исследования, результаты. Алматы, 2014. – С. 114–118.
7. Wegayehu, F. Optimization of explants surface sterilization condition for field grown each (*Prunus persica* L. Batsch. cv. 'Garnem') intended for in vitro culture / F. Wegayehu, M. Firew, A. Belayneh // African Journal of Biotechnology. – 2015. – Vol. 14, N 8. – P. 657–660.
8. A commercial Micropropagation protocol for virupakshi (AAB) banana via apical meristem / P Karule [et al.] // African Journal of Biotechnology. – 2016. – Vol. 15, N 11. – P. 401–407.
9. Жатько К. И., Водчиц Н. В., Волкова Е. М., Вологович А. А. Способ стерилизации эксплантов земляники (*Fragaria L.*) на этапе введения в культуру in vitro // Сборник материалов II международной научно-практической конференции «Биотехнология: достижения и перспективы развития», г. Пинск, 7–8 декабря 2017. – С. 8–10.
10. Лебедь М. Б., Берестнева Ю. В., Волков И. В., Бикметова К. Р., Лебедь Н. И. Исследование эффективности различных способов стерилизации эксплантов картофеля при микроклональном размножении // Успехи современного естествознания. – 2019. – № 9. – С. 26–30.
11. Никитина А. В., Ленточкин А. М., Леконцева Т. Г., Федоров А. В. Влияние способа стерилизации и срока введения в культуру in vitro на жизнеспособность эксплантов клонового подвоя яблони 54–118 // Вестник Удмуртского университета. Серия «Биология. Науки о Земле». – 2020. – № 4. – С. 411–416.