

**Сборник статей по материалам**

**III Всероссийской  
научно-практической конференции**

**«Биотехнология как инструмент  
сохранения биоразнообразия  
растительного мира»**



**Волгоград  
4–6 августа 2010**

**Издательство AVATARS  
Россия, Волгоград, 400078, пр-т. Ленина, д. 100  
[www.avatars.ru](http://www.avatars.ru)**

УДК 577:58  
ББК 28.5

Сборник статей по материалам III Всероссийской научно-практической конференции «Биотехнология как инструмент сохранения биоразнообразия растительного мира», Волгоград, 4–6 августа 2010 – Волгоград: Изд-во AVATARS, 2010. – 370 с.

ISBN 978-5-905045-01-1

В сборнике представлены статьи III Всероссийской научно-практической конференции «Биотехнология как инструмент сохранения биоразнообразия растительного мира». Рассмотрены теоретические и прикладные основы биотехнологии как инструмента сохранения биоразнообразия растительного мира по четырём направлениям: современные методы исследования и сохранения редких и исчезающих видов растений; создание коллекций культур клеток и тканей растений и методы сохранения генофонда; микрклональное размножение растений: научные и практические аспекты; молекулярно-генетические методы в изучении биоразнообразия растений.

УДК 577:58  
ББК 28.5

Всю ответственность за достоверность предоставленных в сборнике материалов несут авторы соответствующих статей. Печатается без корректуры. Авторская орфография и пунктуация сохранены. Иллюстрации предоставлены авторами статей.

ISBN 978-5-905045-01-1

© Государственное учреждение «Волгоградский региональный ботанический сад», 2010

© Оформление: Изд-во AVATARS, 2010

© Илл. обложки: Vladimir Nikitin

И.Ф. Вайновская, И.М. Чумакова, Н.М. Глушакова, Т.И. Фоменко

## Микроклональное размножение в культуре *in vitro* и адаптация герберы (*Gerbera hybrida*)

Герберу размножают генеративным и вегетативным способами. Каждый способ имеет свои преимущества и недостатки. Семенное размножение широко используется в селекции растений. При размножении семенами уменьшается возможность заражения растений болезнями и переноса вредителей. Растения, полученные таким способом, отличаются более мощным ростом и обильным цветением, высокой урожайностью среза цветов. В данной работе исходными эксплантами для получения регенерантов герберы служили гибридные семена (F<sub>1</sub>): Фестиваль, фиолетовый×крупный белый, белый×фиолетовый, Гелиос×сеянец 2 (селекция Центрального ботанического сад). Целью работы являлось изучение способов и сроков адаптации растений герберы, полученных *in vitro*, к нестерильным условиям с использованием малогабаритных пленочных укрытий, а также разработка элементов технологии дорастивания адаптированных растений в оранжерее. При подборе оптимальных сроков адаптации проводили контроль температурного режима и влажности воздуха под пленочным укрытием, а также подбор субстрата, способствующего адаптации с определением оптимальные сроки высадки в грунт.

Применяемые нами стерилизаторы семян по-разному влияли на жизнеспособность семян и последующее развитие проростков. Максимального числа жизнеспособных и минимального числа инфицированных семян удалось достичь при использовании комбинации стерилизующих растворов, а именно при последовательном выдерживании семян в 70 % этаноле (1 мин.) и 0,01 % растворе нитрата серебра (15 мин.). Использование нитрата серебра в качестве стерилизующего раствора сохраняло высокую жизнеспособность семян и приводило к быстрому развитию побегов. Для проращивания семян использовали агаровую безгормональную среду, содержащую минеральные соли по прописи МС, а также питательную среду, дополненную витаминами и регуляторами роста – БАП или кинетином в концентрациях по 1 мг/л. Для этого этапа характерно развитие пазушных побегов, интенсивность которого зависит от концентрации и соотношения гормональных веществ в среде культивирования. Внесение в нее кинетина в концентрации 0,5-2 мг/л вызывает быстрое развитие боковых почек, которые образуют новые пазушные розетки второго и третьего порядков. При изолировании и переносе побегов, развившихся из пазушных почек, на питательную среду, содержащую кинетин в той же концентрации, процесс активации роста пазушных почек повторяется, в результате чего за 3-4 недели образуется 2 - 3 двулистных побегов. Полученные нами растения-регенеранты после стадии укоренения в асептических условиях в течение 2-3 недель представляли собой миниатюрные растения, готовые к переводу в условия *ex vitro* (рис. 1).

*Рисунок 1. Введение в культуру ткани *in vitro* герберы с использованием семян гибридов селекции Ботанического сада.*

Нами разработана технология доращивания пассированного материала, а точнее - получение из него рассады, пригодной для выращивания в оранжерее. Растения извлекали из колбы, корни отмывали от питательной среды под проточной водой и сажали в адаптационный субстрат. В качестве оптимального адаптационного субстрата нами применялся ионитный субстрат Биона 112, приживаемость в котором составила 96 % [13, 14]. На этом этапе адаптации растения культивировали в люминостате при 23-250°С, освещенности 3 тыс. лк 16-ти часовом фотонериоде. Через 10 дней после посадки растения начинают постепенно приучать к условиям окружающей среды, снимая пленку сначала на короткий срок - 15 мин., постепенно увеличивая время закаливания. Через 14 дней, когда под влиянием окружающей среды листья растений перестают увядать и скручиваться, пленку снимают совсем. Чем позже начать закаливание растений, тем дольше и труднее идет этот процесс. Но тут необходимо учитывать, что закаливание нельзя начинать прежде, чем растения тронутся в рост, и будут иметь 2-4 пары молодых листьев. Растения в ионите ( $V=0,2л$ ), имеющие 3 - 5 листочков, через 28-30 дней переносили в оранжерею (рис. 2).

*Рисунок 2. Адаптация растений герберы в ионитном субстрате Биона 112 с переводом в торфяную почвосмесь.*

Установлена зависимость растениями-регенерантами приживаемости микрорастений в субстрате и их стартовыми размерами при перево-

де в условия *ex vitro* (табл. 1). На основе биометрических измерений и учета приживаемости герберы при посадке из культуральных сосудов в субстрат выявлено, что растеньица со стартовым размером более 5 см, с развитыми листьями и корневой системой, имеют хороший прирост и адаптируются в субстрате более чем на 70 %, в то время как растения из других ростовых групп показывают приживаемость менее 50 %. Таким образом, на основании полученных данных видно, что растения герберы *in vitro*, высотой менее 5 см, не готовы к переносу из пробирок в условия *ex vitro*. Приживаемость в этом случае была около 40 %. Микрорастения такого размера целесообразно доращивать до оптимальных параметров и только после этого начинать адаптацию.

№ варианта	Стартовый размер, см	% адаптированных растений
1	6,4±0,34	76,4
2	5,2±0,25	79,0
3	4,1±0,12	41,1
4	2,2±0,17	19,4

Таблица 1. Приживаемость растений герберы в зависимости от стартовых размеров.

При переносе в оранжерею растения должны адаптироваться к новым условиям (температура 20 - 250 °С днем и 17-200 °С ночью, освещенность 1,5-2 тыс. лк, влажность воздуха 90%). Поэтому на первом этапе их помещали в мини-тепличку, увеличивая время проветривания ежедневно, изменяя тем самым температуру и влажность, которая играет определяющую роль, поскольку, произрастая при высокой влажности в культуральных сосудах, растения теряют способность эффективно регулировать водный режим [15]. Относительная влажность воздуха адаптационной среды колебалась от 68 % в дневное время до 100 % ночью. Такая влажность предотвращала увядание растений и способствовала хорошей их приживаемости. Кроме того, температура воздуха под пленочным укрытием в мае - августе была близкой к оптимальным значениям (26-280 °С). Через две недели растения герберы аккуратно вынимали, чтобы на корешках сохранялся ионит. Помещали в горшок того же объема, при этом на дно и вокруг досыпался грунт, который специально

составлялся в оранжерее для данной культуры. В среднем период акклиматизации длится около 3-4 недель. Спустя два месяца адаптации герберу пересаживали в емкости большего размера. Адаптированным к условиям оранжереи считали растение герберы, которое через три месяца после переноса в грунт имело нормальное развитие листьев и корневой системы. Спустя 3 месяца растения, размноженные *in vitro*, в оранжерее зацветали.

Было проведено исследование и проведены измерения. В таблице 2 представлены данные по приросту надземной части от сроков адаптации. Растения высаживали в последней декаде каждого месяца, начиная с мая. Через месяц адаптированные растения высаживали в горшки с почвенным субстратом. Наиболее высокие показатели прироста надземной части были получены у гибрида фиолетовый крупный белый, особенно при майском и июньском сроках адаптации.

Через 30 дней после высадки на адаптацию растения, независимо от сроков пересадки, сформировали примерно одинаковую надземную часть (табл. 3). Однако к концу вегетации разница по этому показателю между вариантами опыта была значительной. Наибольший прирост надземной части образовывали растения, высаженные на адаптацию в мае – июне. По сравнению с растениями, высаженными в последующие сроки, они были выше в 1,45 раза. Наиболее высокая приживаемость была также выше у растений, высаженных в эти сроки.

Таким образом, анализируя полученные результаты, мы сделали следующие выводы: малогабаритные пленочные укрытия можно с успехом применять для адаптации микроклональных растений герберы к нестерильным условиям оранжереи. Исследования показали, что адаптационный потенциал микрорастений герберы к нестерильным условиям зависел как от сортовых особенностей, так и, главным образом, от времени пересадки. Оптимальным сроком пересадки растений герберы с целью их адаптации является вторая половина мая – начало июня.

#### Список литературы

1. Янукова, Н.А. Рекомендации по промышленному выращиванию герберы в БССР / Н.А. Янукова. – Минск, 1983. – 9с.
2. Pierik R. Effect of cytokinin and cultivar on shoot formation of *Gerbera jomescni in vitro*// Netherlands I, agr. Sck.- 1982.- Vol. 30. P. 341-347.