

## СПОСОБ СТЕРИЛИЗАЦИИ ЭКСПЛАНТОВ ЗЕМЛЯНИКИ (*FRAGARIA L.*) НА ЭТАПЕ ВВЕДЕНИЯ В КУЛЬТУРУ *IN VITRO*

<sup>1</sup>ЖАТЬКО Карина Игоревна, магистрант

<sup>1</sup>ВОДЧИЦ Наталья Васильевна, м.н.с., зав. НИЛ КТР

<sup>1</sup>ВОЛКОВА Елена Михайловна, к. с.-х. наук, доцент

<sup>2</sup>ВОЛОТОВИЧ Антон Анатольевич, к.б.н., доцент

<sup>1</sup>Полесский государственный университет

<sup>2</sup>Республиканский лесной селекционно-семеноводческий центр

**Введение.** Земляника (*Fragaria L.*) является наиболее распространенной ягодной культурой в мире. Она обладает массой положительных качеств: высокой приспособляемостью к различным условиям среды, хорошей ежегодной урожайностью [1, с. 3].

Земляника достаточно хорошо размножается вегетативным способом либо семенами [4, с. 21]. Однако стоит учесть, что при таком размножении есть риск снижения урожайности культуры на 20–50%, из-за поражения грибными и вирусными инфекциями, передающимися от материнского растения [1, с.12]. Всего этого можно избежать благодаря методу клонального микроразмножения растений, который позволяет в короткие сроки, вне зависимости от погодных условий, получить неограниченное количество, свободного от фитопатогенов, посадочного материала, генетически идентичного материнскому растению [5, с. 3]. Процесс начинается с изолирования экспланта, его стерилизации и посадки на агаризованную питательную среду. Одна из основополагающих ролей отводится подбору стерилизующих соединений, эффективных концентраций этих соединений, и продолжительности времени обработки с целью получения высокого выхода стерильных, жизнеспособных эксплантов [3, с. 13].

Целью данной работы явилось изучение разных способов стерилизации эксплантов земляники садовой на этапе введения ее в культуру *in vitro*.

**Методика и объекты исследования.** Исследования проводили на базе биотехнологической лаборатории НИЛ клеточных технологий в растениеводстве биотехнологического факультета учреждения образования «Полесский государственный университет» в сентябре–ноябре 2017 года.

Для асептического введения в культуру *in vitro* были использованы верхушечные столоны (усы) земляники садовой сорта Honey. В качестве стерилизующих соединений испытывали либо 6%-й раствор хлорамина (время экспозиции 15 мин), либо 7,5%-й раствор гипохлорита натрия (время экспозиции 25 мин).

В первом эксперименте экспланты погружали в стерилизующий раствор хлорамина, как указано выше. Во втором эксперименте, до погружения в стерилизующий раствор гипохлорита натрия экспланты предварительно выдерживали в течение 18 минут в растворе фунгицидов (по 200 мг Ридомил Голд и Байтан на 100 мл раствора), с добавлением 2 мг аскорбиновой кислоты и 300 мкл Tween 20, из расчета на 100 мл раствора [2, с. 87].

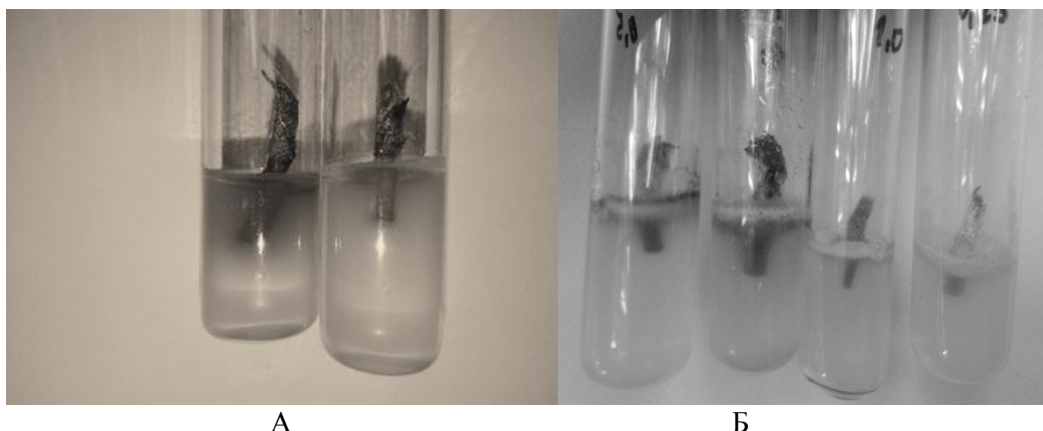
После стерилизации материал трижды, на протяжении 5 минут каждый раз, промывали в трех порциях стерильной бидистиллированной воды с добавлением 2 мг аскорбиновой кислоты, из расчета на каждые 100 мл воды.

После стерилизации материал высаживали на агаризованные, питательные среды Мурасиге-Скуга [1, с. 24] и Андерсона [1, с. 25] с добавлением четырех различных концентраций 6-бензиламинопурина (6-БАП): 0,25 мг/л; 0,50 мг/л; 0,75 мг/л и 1,00 мг/л. Емкости с эксплантами размещали на стеллажах световой установки культурального помещения биотехнологической лаборатории НИЛКТР ПолесГУ при температуре +25°C, фотопериоде день/ночь – 16/8 ч, освещенности 6000 лк, относительной влажности воздуха 70%.

Ежедневно, на протяжении 2-х месяцев проводился учет количества инфицированных, окисленных, стерильных и жизнеспособных, активно регенерирующих растений.

**Результаты и их обсуждение.** Для асептического введения и стабилизации в культуре *in vitro* земляники используют различные части растения: верхушечные столоны, вычлененные меристематические апексы из почек усов и розеток, пыльники, базальные участки цветковых почек, листовые диски и семена. В данной работе в качестве исходного материала использовали верхушечные столоны, так как они содержат наименьшее количество возбудителей болезней земляники [1, с. 22].

Для каждого растения на этапе асептического введения *in vitro*, экспериментальным путем определяется оптимальный режим стерилизации, предотвращающий развитие вирусных и грибковых инфекций и способствующий высокому выходу стерильных, жизнеспособных, активно регенерирующих эксплантов [3, с. 14]. В первом случае, в качестве стерилизующего соединения был взят 6%-й раствор хлорамина, который по степени дезинфицирующего действия относится к средней группе и обладает наименее выраженным токсическим действием. Тем не менее, уже на второй день эксперимента мы наблюдали потемнение ткани и культурной среды продуктами окисления фенольных соединений, подавляющими деление и рост клеток эксплантов (рисунок А). Поскольку не применялись фунгициды, на пятый день эксперимента были замечены признаки развития грибного мицелия (рисунок Б).



**Рисунок – Асептическое введение земляники в культуру *in vitro***

А – Экспланты земляники с признаками окисления;

Б – Экспланты земляники, пораженные грибной инфекцией

В итоге, при использовании в качестве стерилизующего соединения 6%-ного раствора хлорамина, были получены следующие результаты: 86% эксплантов были инфицированы, и 14% были подвергнуты окислению.

Во втором случае до стерилизации растительного материала 7,5%-м раствором гипохлорита натрия, нами были использованы фунгициды. Поэтому инфицированного материала стало меньше в 1,1 раза (79%), зарастание грибным мицелием начиналось на 10–12 день после высаживания экспланта на агаризованную, питательную среду. Процент окислившихся эксплантов был в 1,3 раза выше и составил 19%. Процент стерильных жизнеспособных растений – 2%.

**Выводы.** Наиболее подходящим способом получения 2% стерильных, жизнеспособных и регенерирующих эксплантов земляники садовой сорта Honey является способ, отработанный ранее на сортовой голубике высокой, с применением фунгицидов Ридомил Голд и Байтан (по 200 мг на 100 мл раствора), с добавлением 2 мг аскорбиновой кислоты и 300 мкл Tween 20, из расчета на 100 мл раствора, до стерилизации 7,5%-м раствором гипохлорита натрия на протяжении 25 минут.

#### Список использованных источников

1. Инновационные технологии возделывания земляники садовой / В.А. Высоцкий [и др.]; под общ. ред. И.М. Куликова науч.-практ. изд. – Москва : ФГНУ «Росинформагротех», 2010. – 88 с.
2. Кудряшова, О.А. Физиолого-биохимические особенности действия брассиностероидов на процессы микроклонального размножения голубики высокорослой *Vaccinium corymbosum* L.): дис. ... канд. биол. наук : 03.01.05. / О.А. Кудряшова. – Минск, 2015. – 175 с.
3. Кутас, Е.Н. Влияние стерилизующих соединений на выход жизнеспособных эксплантов рододендронов (*Rhododendron* L.) при введении в культуру *in vitro* / Е.Н. Кутас, М.В. Гаранинова // Весці НАНБ. Сер. біял. навук – 2015. – № 2. – С. 13-17.
4. Линник, Т.А. Повышение эффективности способов размножения сортов земляники садовой (*Fragaria x ananassa* Duch.), характеризующихся низкой усобразающей способностью: дис. ... канд. с.-х. наук: 06.01.05 / Т.А. Линник. – Москва, 2014. – 141 с.
5. Тимофеева, О.А. Клональное микроразмножение растений: учеб.-метод. пособие / О.А. Тимофеева, Ю.Ю. Невмержицкая. – Казань: Казанский университет, 2012. – 59 с.