

**ОСОБЕННОСТИ ВВЕДЕНИЯ В КУЛЬТУРУ *IN VITRO*
РАСТЕНИЙ ГОЛУБИКИ ВЫСОКОРОСЛОЙ "НЕЛЬСОН"
(*VACCINIUM CORYMBOSUM* "NELSON")**

Портянко Андрей Валентинович, студент

Национальный университет биоресурсов

и природопользования Украины,

Чернобров Оксана Юрьевна, к.с.–х.н., заведующий

научно–исследовательской лабораторией биотехнологии растений

Обособленное подразделение

Национального университета биоресурсов и

природопользования Украины

«Боярская лесная опытная станция»

В настоящее время украинские производители плодовой годной продукции заинтересованы в выращивании новых перспективных культур, среди которых особое место занимает голубика высокорослая (*Vaccinium corymbosum* L.) – ценное пищевое, лекарственное и декоративное растение. Однако, существующие методы вегетативного размножения голубики чрезвычайно трудоемкие и не позволяют оздоравливать растения от ряда заболеваний [1]. В этом контексте значительный интерес представляет метод культуры изолированных тканей растений *in vitro*, который дает возможность получить оздоровленный генетически однородный посадочный материал в течении года с минимального количества доноров [2, 3].

Отечественными и зарубежными авторами были разработаны технологии микроклонального размножения для отдельных генотипов растений рода *Vaccinium* L. В то же время известно, что использование клонального микроразмножения требует решения ряда вопросов научного–исследовательского характера, связанных с видовой специфичностью растения: выбором донора, сезоном изоляции растительного материала, типом эксплантов, получением асептической культуры, подбором питательных сред на всех этапах микроразмножения, адаптацией растений–регенерантов к условиям открытого грунта [2, 3, 4]. Необходимость преодоления отдельных специфических моментов возникает уже на начальном этапе размножения растений *in vitro*: получение асептической культуры, сохранение жизнеспособности тканей, подготовка эксплантов к регенерации и стабилизации роста *in vitro*. Именно поэтому целью исследования была оптимизация методики введения эксплантов растений *V. corymbosum* "Nelson" в культуру *in vitro* для массового микроклонального размножения.

Для исследований использовали части побегов длиной 15–30 см, которые отбирали с 3–4–летних растений–доноров *V. corymbosum* "Nelson" в сентябре–октябре 2017–2018 гг. В качестве эксплантов, применяли микропобеги длиной 10–15 мм. Стерилизация растительного материала заключалась в выдерживании в мыльном растворе и проточной воде (по 20–

30 мин.), ополаскивании дистиллированной водой, обработке 70 % этиловым спиртом (30–60 сек.), погружении в стерилизующий раствор и 3–5-кратном промывании в стерильной дистиллированной воде (по 10–15 мин. в каждой порции). В качестве стерилизующих веществ использовали: 0.1 % HgCl_2 , 1.0 % AgNO_3 , 2.5 % NaClO . Экспланты вводили в культуру *in vitro* на базовую безгормональную питательную среду по прописи Мурасиге и Скуга (МС) [5]. Также в среды вносили $100 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ мезоинозитола, $30 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ сахарозы и $7,0\text{--}7,3 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ агара микробиологического. Регенерационную способность эксплантов исследовали на МС с добавлением регуляторов роста цитокининового типа действия: 6-бензиламинопурин (6-БАП), 6-фурфуриламинопурин (кинетин), N-изопентениламинопурин (2-иП). Растительный материал культивировали по общепринятой методике [2, 3] в культуральном помещении при температуре $24 \pm 2^\circ\text{C}$ и освещении 2,0–3,0 клк с 16-часовым фотопериодом и относительной влажности воздуха 70–75 %. Исследования выполнены в научно-исследовательской лаборатории биотехнологии растений ОП НУБиП Украины «Боярская ЛОС».

В результате проведенных исследований установлены условия эффективной стерилизации (более 70 %) эксплантов растений *V. corymbosum* "Nelson": применение ступенчатого способа, который заключался в выдерживании растительного материала 1 мин. в 70 % этиловом спирте, погружение на 10–11 мин. в 2.5 % NaClO с последующим переносом в 1.0 % AgNO_3 . В условиях обработки растительного материала в течение 15 мин. в 1.0 % AgNO_3 доля асептических жизнеспособных эксплантов составила 45–55 %. Использование для их стерилизации 2.5 % NaClO или 0.1 % HgCl_2 в течение 15 мин. нецелесообразно, поскольку в этих процедурах эффективность не превышала 30 %. Активный рост микропобегов *V. corymbosum* "Nelson" фиксировали в весенний период на среде МС с внесением $1.0\text{--}2.0 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ 2-иП. При цикле культивирования 45 суток высота микропобегов составляла 1,5–3,0 см, наличие корневой системы не наблюдали. В летний и осенний период регенерационная способность растительного материала на выше указанной среде достоверно снижалась, также наблюдали наличие желтой пигментации листьев, с последующим их опаданием. Частые субкультивирования микропобегов (каждые 3–4 суток) не дали положительного результата. Использование в качестве регуляторов роста $0,5\text{--}2,0 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ 6-БАП или $0,5\text{--}2,0 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ кинетина не индуцировало рост и развитие микропобегов, вызывало отмирание тканей.

Итак, в результате исследований оптимизирована методика введения эксплантов растений *V. corymbosum* "Nelson" в культуру *in vitro* использование которой позволяет получать значительное количество асептических жизнеспособных микропобегов. Дальнейшие исследования направлены на стабилизацию роста культуры *V. corymbosum* "Nelson", изучение влияния регуляторов роста на морфогенетический потенциал тканей и органов *in vitro* для массового микроклонального размножения.

Список использованных источников

1. Курлович Т.В. Клюква, Голубика, Брусника: пособие для садоводов любителей / Курлович Т.В. / – М.: Ниола–Пресс, 2007. – 200 с.
2. Бутенко Р.Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений / Р.Г. Бутенко. – М.: Наука, 1964. – 272 с.
3. Smith R. H. Plant Tissue Culture: Techniques and Experiments. – 2012. – 55 pp.
4. Yavorska N.Y. Microclonal propagation of the varieties of highbush blueberry *Vaccinium corymbosum* L. / Yavorska N.Y., Lobachevska O.V., Khorkavtsiv Ya. D., Kyyak N. Ya. // Biotechnologia Acta. – 2016. – Vol. 9, N. 5. – P. 30–37.
5. Murashige T. A Revised Medium for Rapid, Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Cultures / T. Murashige, F. Skoog // Physiol. Plant. – 1962. – Vol.15, N. 3. – P. 473.