

ВЛИЯНИЕ ТИПА ЛИСТОВЫХ ЭКСПЛАНТОВ МАЛИНЫ СОРТА ПОЛЬКА НА ИНДУКЦИЮ МОРФОГЕНЕЗА В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

А.В. Максимук, 4 курс

Научный руководитель – С.М. Ленивко, к.б.н., доцент
Брестский государственный университет имени А.С. Пушкина

Актуальность. Перспективным направлением является разработка подходов по инициации процессов морфогенеза в культуре *in vitro* листовых эксплантов ремонтантных форм малины (*Rubus idaeus* L.), физиологические особенности развития которых обуславливают крайне низкую способность к вегетативному размножению, что в свою очередь порождает проблему – недостаток качественного посадочного материала. Техника *in vitro* позволяет наиболее полно реализовать потенциал растений к вегетативному размножению и является на сегодняшний день главной составляющей современных биотехнологий в производстве безвирусного оздоровленного посадочного материала.

Цель – оценить влияние типа листовых эксплантов ремонтантной малины сорта Полька на индукцию морфогенеза в культуре *in vitro*.

Материалы и методы. В эксперименте использовали различные типы листовых эксплантов: листовая пластинка, лист с черешком, листовой диск малого диаметра (4 мм), листовой диск большого диаметра (6 мм). Листовые диски были получены при помощи пробочного сверла из листьев микропобегов сорта Полька ремонтантной малины, культивируемых в течение двух месяцев в условиях *in vitro*. На листовые пластинки с нижней стороны скальпелем наносили небольшие надрезы для ускорения регенерационных процессов.

Подготовленные экспланты высаживали на питательную агаризованную среду, приготовленную по прописи Мурасиге и Скуга и дополненную фитогормоном 6-бензиламинопурином в концентрации 1,2 мг/л. В течение 3 дней экспланты инкубировали в условиях пониженного освещения, для чего свет пропускали через темную ткань. Далее листовые экспланты культивировали при температуре 19 °С и периодическом освещении (16 ч день и 8 ч ночь) интенсивностью 3000 лк в камере для роста растений. Оценку отзывчивости листовых эксплантов на условия культивирования *in vitro* проводили по таким параметрам, как количество листовых эксплантов с образовавшимися каллусами и число образовавшихся регенрантов. Статистическая обработка полученных результатов проводилась по общепринятым методам биологической статистики с использованием программы MS Excel 2007.

Полученные в нашем эксперименте результаты с использованием различных типов листовых эксплантов сорта малины польской селекции Полька подтвердили представление об эффективности 6-бензиламинопурина в концентрации 1,2 мг/л на индукцию процесса каллусообразования (рисунок 1).

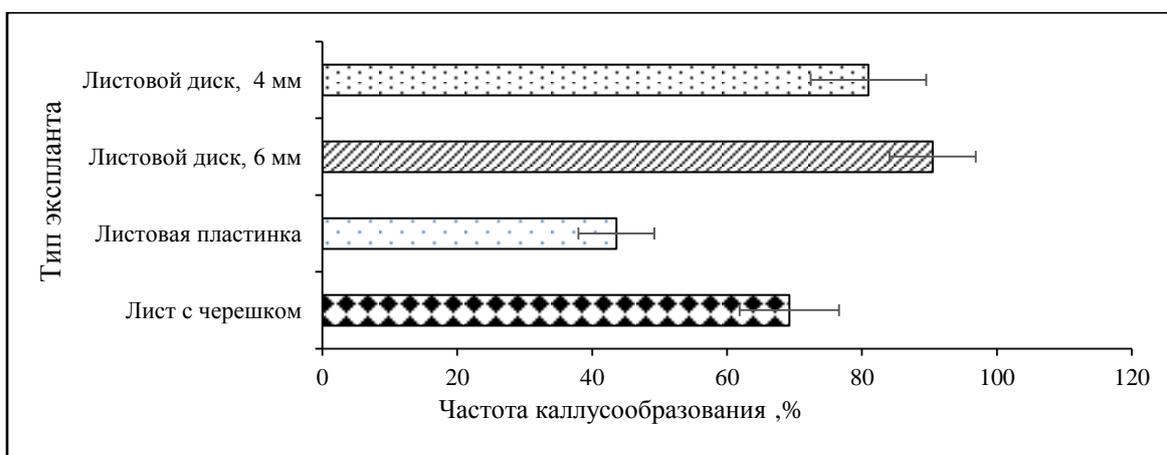


Рисунок 1. – Частота каллусогенеза в культуре листовых эксплантов сорта Полька

Так, наибольшая частота индукции каллусогенеза наблюдалась у листового диска большого диаметра и составила $90,48 \pm 6,41$ %. Листовой диск малого диаметра также показал высокую отзывчивость на условия культивирования, частота образования каллусной ткани была на уровне $80,95 \pm 8,57$ %. По-видимому, это обусловлено размером вырезанной окружности, длина которой составила 18,84 мм и 12,56 мм соответственно.

Частота образования каллусной ткани у листовых пластинок оказалась наименьшей и составила $43,59 \pm 5,61$ %, поскольку она образовывалась у основания и не значительно на нижней стороне листа.

У листьев с черешком каллусная ткань образовывалась не только на нижней стороне листовых пластинок в местах поранения, но и на черешках. Частота каллусообразования у данного типа эксплантов составила $69,23 \pm 7,39$ %.

Частота образования регенерантов в целом в эксперименте оказалось меньше по сравнению с частотой каллусообразования, поскольку, как показали предыдущие наши исследования, 6-бензиламинопурин в концентрации 1,2 мг/л уступает в эффективности по индукции процессов регенерации тидиазурону в концентрации 0,1 мг/л. Полученные нами данные показали, что только в случае использования в качестве листового экспланта листа с черешком можно получить $66,67 \pm 7,55$ % регенерантов. В остальных вариантах эксперимента частота регенерации оказалась ниже 25 % (рисунок 2).

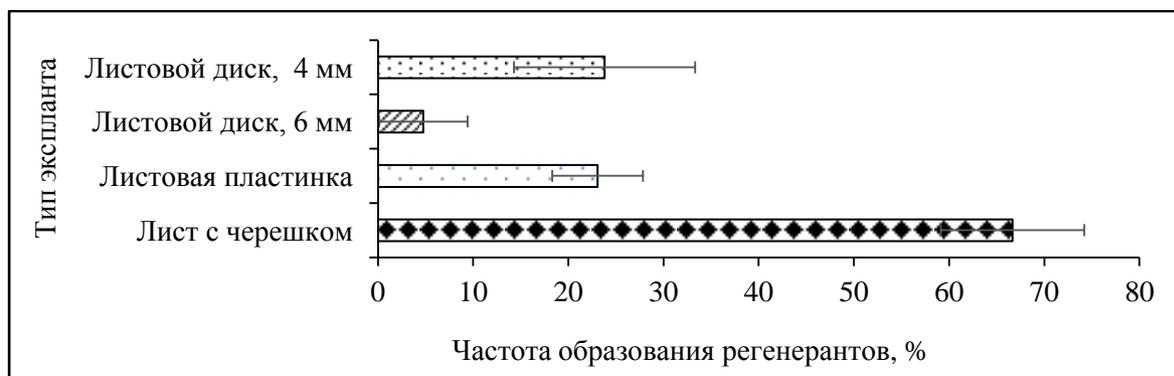


Рисунок 2. – Частота образования регенерантов в культуре листовых эксплантов ремонтантной малины сорта Полька

Выводы. Таким образом, проведенные нами исследования показали возможность использования листовых дисков в качестве эффективного типа эксплантов для получения каллусной ткани на питательной среде под влиянием 6-бензиламинопурина в концентрации 1,2 мг/л. Полученные данные по частоте регенерации отличались от теоретически ожидаемых, возможно это связано с активным использованием питательной среды и разрастанием каллусной ткани у листовых дисков, что привело к замедлению процессов регенерации. Возможным направлением повышения эффективности регенерации у листовых дисков будет пересадка сформированных каллусов на свежую питательную среду после 42 суток.