

У.А. Христенко, 5 курс

Научный руководитель – Л.С. Цвирко, д.б.н., профессор

Полесский государственный университет

Введение. Разработка эффективных методов ускоренного получения посадочного материала на основе культуры *in vitro* и методов идентификации и защиты от бактериального и вирусного заражения с целью получения оздоровленного посадочного материала имеет огромное практическое значение в деле создания новых конкурентоспособных сортов растений, в том числе лекарственных, биоэнергетических, пряно-ароматических и декоративных [1, с.123].

Целью работы является подбор наиболее результативных методов стерилизации и введения в культуру *in vitro*, а также определение всхожести гибрида *Paulownia Z07 Pao Tong*.

Материалы и методы исследований. Работа проводилась на базе отдела биохимии и биотехнологии растений Центрального Ботанического Сада НАН Беларуси в лаборатории прикладной биохимии с применением методов микроклонального размножения и стерилизации семян. Объектом исследования являлись семена и стебли гибрида *Paulownia Z07 Pao Tong*.

Семена проращивали в чашках Петри на бумаге смоченной дистиллированной водой при комнатной температуре и мягким светом при фотопериоде 16/8. Стерилизацию проводили в виде проросших и не проросших семян по трём методам: спирт – 1 минута, гипохлорит – 5 минут (1-й метод); фунгицид «Прозаро» – 10 минут, спирт – 1 минута, гипохлорит – 5 минут (2-й метод); фунгицид «Прозаро» – 10 минут, раствор 0,1% серебра – 1,5-2 минуты (3-й метод) [4, с. 16].

По окончании стерилизации, семена и проростки помещали в чашки Петри на безгормональную MS среду с содержанием 15 г/л сахарозы [3, с. 293], одну повторность выдерживали сутки в термостате при температуре +26°C. После чего чашки стояли в световой при фотопериоде 16/8 3000 lux и температуре +22–24°C [2, с.73].

При введении в культуру *in vitro* гибрида Павловнии Z07 Pao Tong на основании ряда статей были подобраны следующие среды: MS, ½ MS, WPM, ½ WPM с содержанием 20 г/л сахарозы и 0,5 мл/л ВАР в каждой [2,5,6]. По окончании черенкования сосуды поставили в световой при фотопериоде 16/8 3000 lux и температуре +22–24°C [6, с.224].

Результаты исследований. Наблюдение за всходом *Paulownia Z07 Pao Tong* проводили в течении 14-и суток, на каждые 4-е сутки осуществляли контрольный подсчёт, результаты внесли в таблицу. Тенденция нарастания всхожести была зафиксирована в промежутке на 12-е и 14-е сутки, показатель всхожести достиг значения 56%.

Таблица – Оценка всхожести семян Павловнии Z07 Pao Tong

| Объект наблюдения | Общее количество семян шт. | Вид семян | 4-е сутки | 8-е сутки | 12-е сутки | 14-е сутки |
|------------------------|----------------------------|----------------------|-----------|-----------|------------|------------|
| Павловния Z07 Pao Tong | 100 | Разбухшие /проросшие | 10 шт. | 21 шт. | 35 шт. | 56 шт. |
| | | Загнившие | Нет | Нет | Нет | Нет |
| | | Твердые | 90 шт. | 79 шт. | 65 шт. | 44 шт. |
| | | Всхожесть % | 10% | 21% | 35% | 56% |

Проросшие семена стерилизовали по трем методам в две повторности. Во время наблюдения за стерилизованными проростками в течении 14-и суток, прироста и контаминации отмечено не было. Ростки из здорового зелёного приобрели белый цвет. Из чего можно сделать вывод что ни один метод стерилизации проросшими семенами не является допустимым, так как в ходе стерилизации ткани растения повреждаются без возможности восстановления.

Что касается стерилизованных семян, то на 8-е сутки от начала наблюдения проклюнулись первые семена. Лучше всего всход наблюдался в чашках, помещённых в термостат на сутки. Больше всех семян взошло в чашках, стерилизованных по второму и первому методу. В чашках, стерилизованных по третьему методу, была замечена контаминация грибковыми и бактериальными инфекциями.

В ходе наблюдения за ростом черенков *Paulownia Z07 Pao Tong* отмечено, что активнее всего на рост листьев повлияла среда MS с полной концентрацией, второй по силе оказалась среда WPM с полной концентрацией, следом $\frac{1}{2}$ MS и $\frac{1}{2}$ WPM соответственно. На протяжении 10-и суток в месте углубления черенка активно развивался каллус. Активнее всего на его развитие оказала среда WPM с полной концентрацией. Данная среда так же положительно повлияла на развитие корней, их длина и количество были сравнимо больше чем в средах: MS, $\frac{1}{2}$ MS, $\frac{1}{2}$ WPM.

Заключение. Из проделанной работы можно сделать вывод о том что, наиболее результативным является способ стерилизации не проклюнувшимися семенами по схеме: фунгицид «Прозаро» – 10 минут, спирт – 1 минута, гипохлорит – 5 минут, для увеличения всхожести также рекомендуется поместить семена на сутки в термостат при температуре +26°C. Стерилизации фунгицид «Прозаро» – 10 минут, раствор 0,1% серебра – 1,5-2 минуты, оказалось недостаточно для предотвращения возможной контаминации, в данном случае рекомендуется увеличить выдержку в растворе 0,1% серебра или же прибегнуть к схеме стерилизации: спирт – 1 минута, гипохлорит – 5 минут.

При размножении стеблевыми черенками *in vitro* наиболее благоприятной и результативной в процессе морфогенеза является: среда с полной концентрацией WPM, 20 г/л сахарозы и 0,5 мг/л ВАР. Вывод подкрепляется тем, что скорость роста корней на ней превышает рост корней на средах: MS, $\frac{1}{2}$ MS, $\frac{1}{2}$ WPM, а скорость развития листьев немного уступает росту на среде с полной концентрацией MS.

Список использованных источников

1. Бутенко, Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнология на их основе: учеб. пособие / Р.Г. Бутенко. – М., 1999. – С. 160.
2. Жарасова, Д.Н. Микрклональное размножение павловнии войлочной / Д.Н. Жарасова, Н.А. Толеп // Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии. – 2022. – № 21-1. – С. 71-74.
3. Лесова, Ж.Т. Изучение регенерационной способности древесной культуры *Paulownia tomentosa* (Thunb) steud для микрклонального размножения / Ж.Т. Лесова, А.К. Амирова, И.Ш. Шаяхметова [и др.] // Актуальная биотехнология. – Алматы, 2017. – № 2(21). – С. 294.
4. Лесной, Н.Н. Биотехнологические, физиологические и экологические особенности размножения гибрида Павловнии (*Paulownia*) в культуре *in vitro*: инновационные агротехнологии/ Н.Н. Лесной, Б.П. Григорюк, А.В. Мацкевич // Материалы Всеукраинской научной конференции 28 марта. – Умань, 2018. С. 16-17.
5. Решетников, В.Н. Биотехнология растений и перспективы ее развития / В. Н. Решетников, Е.В. Спиридович, А.М. Носов // Физиология растений и генетика. – М, 2014. Т. 46, №1. С. 3–18.

6. Chunchukov, A. Micropropagation of Paulownia species and hybrids / A. Chunchukov, S. Yancheva // First National Conference of Biotechnology. – Sofia, 2015. Vol. 100, №1 – P. 223–230.