

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ АСЕПТИЧЕСКОГО ВВЕДЕНИЯ РЕМОНТАНТНЫХ ФОРМ МАЛИНЫ В КУЛЬТУРУ *IN VITRO*

А.А. Лозицкая, 5 курс, **И.О. Середич**, н.с.

Научный руководитель – **Н.В. Водчиц**, заведующий ОЛ
«ДНК и клеточных технологий в растениеводстве и животноводстве»

Полесский государственный университет

Сортовые формы малины являются ценными и перспективными культурами для промышленного и любительского садоводства. Ремонтантная малина отличается длительным периодом плодоношения, а так же возможностью возделывания в закрытом грунте [2, с. 3].

Микрклональное размножение растений *in vitro* является современным биотехнологическим способом производства посадочного материала. Он позволяет получать оздоровленные саженцы в кратчайшие сроки, а так же обеспечивает сохранение особенностей сорта. Данным приемом на сегодняшний день получают посадочный материал множества видов и сортов растений [3, с. 162].

Цель исследования: сравнение действия разных способов стерилизации эксплантов на этапе введения в культуру *in vitro* ремонтантной малины сорта Маргарита.

Исследования проводили на базе отраслевой лаборатории «ДНК и клеточных технологий в растениеводстве и животноводстве» учреждения образования «Полесский государственный университет». Для асептического введения были использованы фрагменты побегов малины ремонтантной сорта Маргарита в количестве 18 шт. Каждый из экспериментов был проведен в трех повторностях.

В первом эксперименте экспланты обрабатывались одним из трех фунгицидов: «Титул 390», «Ракурс СК», «Раек КЭ» в концентрации по 2 г/л. Остальные этапы обработки совпадали с контрольным вариантом.

Во втором опыте тестировали два варианта обработки эксплантов хлорсодержащими стерилизующими агентами. Применяли 6 %-й раствор хлоргексидина (время экспозиции 10 мин), водный раствор 10 % «Domestos» (гипохлорит натрия <5 %) (экспозиция 10 мин).

В контрольном варианте применялась стандартная методика, ранее используемая в лаборатории для введения малины в культуру *in vitro*. В ней экспланты выдерживали в растворе фунгицидов по 200 мг «Ридомил Голд» и «Байтан» на 100 мл раствора, а стерилизующим веществом выступал гипохлорита кальция 7 % (экспозиция 10 мин). [1, с. 12].

После стерилизации материал высаживали на агаризованную питательную среду Мурасиге-Скуга. Результаты фиксировали на 28 день культивирования.

Все выбранные фунгициды обладают широким спектром действия, т.е. влияют одновременно на несколько биохимических реакций в клетках грибов. «Титул 390» ингибирует биосинтез эргостерина, угнетая спорообразование. «Ракурс СК» задерживает метаболизм, влияет на рост гриба. «Ракс КЭ» подавляет рост субкутикулярного мицелия, снижает уровень спороношения [4].

На 21 день культивирования экспланты, обработанные фунгицидами «Титул 390», «Ракурс СК», «Ракс КЭ» не имели внешних признаков заражения, но были нежизнеспособными, что говорит о возможных скрытых грибковых заболеваниях (таблица 1).

Таблица 1. – Выход стерильных эксплантов малины *in vitro* после обработки фунгицидами

Вариант	Фунгицид	Наличие стерильных первичных эксплантов		Наличие активно регенерирующих первичных эксплантов	
		шт.	%	шт.	%
Контроль	Ридомил Голд Байтан	2	66,7 %	2	66,7 %
1	Титул 390	0	0%	0	0%
2	Ракурс СК	0	0%	0	0%
3	Ракс КЭ	0	0%	0	0%

Два из трех эксплантов в контрольном варианте были стерильными и жизнеспособными. Коэффициент введения, установленный соотношением количества жизнеспособных эксплантов к первоначальному числу вводимых черенков, составил 66,7 %. Действующим веществом фунгицида «Байтан» является триадименол, который оказывает воздействие на баланс продуктов терпеноидного биосинтеза. Он проникает внутрь растений, распространяется по сосудистой системе и подавляет развитие возбудителя вследствие непосредственного воздействия на него или в результате обмена веществ в растении. «Ридомил Голд» – фунгицид одновременно и контактного и системного действия, он нарушает биохимические процессы в цитоплазме и митохондриях и синтез нуклеиновых кислот грибов [4].

После обработки фунгицидами растительный материал обрабатывался антисептическими веществами. В стандартной методике на этом этапе используется гипохлорит кальция, в связи с чем, подобранные для эксперимента вещества также являлись хлорсодержащими.

Средство «Domestos», в отличие от множества других, не содержит в составе щелочи или других компонентов, способных навредить экспланту. Поверхностно-активные вещества в его составе увеличивают шансы успешной стерилизации при меньшем воздействии хлора на растение [1, с. 14].

Выход жизнеспособных эксплантов составил – 33,3 % (1 шт.) при обработке «Domestos» и 33,3 % (1 шт.) при стерилизации 6 % раствором хлоргексидина (Таблица 2).

Таблица 2. – Выход стерильных эксплантов малины *in vitro* после обработки антисептиками

Вариант	Антисептик	Наличие стерильных первичных эксплантов		Наличие активно регенерирующих первичных эксплантов	
		шт.	%	шт.	%
Контроль	Гипохлорит кальция	2	66,7 %	2	66,7 %
1	Domestos	2	66,7 %	1	33,3 %
2	Хлоргексидин	1	33,3 %	2	66,7 %

Несмотря на то, что в контрольном варианте удалось получить больше стерильных незараженных микрочеренков – 2 шт. (66,7 %), экспланты, стерилизованные при помощи других веществ, обладали меньшей площадью повреждения тканей, растения быстрее восстанавливались после стерилизации. Это связано с меньшим содержанием хлора в данных агентах.

Коэффициент введения для эксплантов малины в контрольном варианте с фунгицидами «Ридомил Голд» и «Байтан» составил 66,7 %. Микрочеренки, обработанные другими фунгицидами, не имели внешних признаков заражения грибами, но были нежизнеспособными.

Большее количество стерильных незараженных микропобегов – 66,7 % удалось получить при стерилизации 7 % гипохлоритом кальция.

Коэффициент введения при обработке растворами хлоргексидина и «Domestos» составил 33,3 % в каждом варианте, но растительные ткани были подвержены окислению значительно меньше.

Список использованных источников

1. Зеленое производство: методические разработки / А. А. Лозицкая [и др.]. – Пинск : ПолесГУ, 2023. – 17 с.
2. Киселева, Е. Н. Оценка сортов и форм ремонтантной малины для селекции и хозяйственного использования в южном предбайкалье: дис. ... канд. с.-х. наук : 06.01.05 / Е. Н. Киселева. – Иркутск, 2022. – 183 л.
3. Селекция и сорторазведение садовых культур / С. Д. Князев [и др.] // ФГБНУ ВНИИ селекции плодовых культур. – 2017. – Т. 4, № 2. – С. 161 – 164.
4. Crop Science – Россия [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.crop-protection.ru/active/> – Дата доступа: 09.04.2025.