

УДК 57.085.02: 582.717.7

**АНАЛИЗ ИЗМЕНЧИВОСТИ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ПРИЗНАКОВ
У РЕГЕНЕРАНТОВ *RIBES NIGRUM* СОРТА “TISEL” НА СРЕДАХ РАЗНОГО
ГОРМОНАЛЬНОГО СОСТАВА *IN VITRO***

Т.П. Кунаховец, 3 курс

Научный руководитель – О.А. Кудряшова, научный сотрудник

Научный консультант – А.А. Волотович, к.б.н., доцент

Полесский государственный университет

Смородина черная (*Ribes nigrum*) – основной вид рода *Ribes* семейства Grossulariaceae, занимающий ведущее место среди ягодных культур в РФ и в Республике Беларусь [1]. Несмотря на вы-

сокий коэффициент размножения традиционными вегетативными методами – черенками и отводками, метод клонального микроразмножения смородины *in vitro* представляет интерес [2].

Исследования проводили на базе биотехнологической лаборатории НИЛ клеточных технологий в растениеводстве (далее НИЛ КТР ПолесГУ) УО «Полесский государственный университет» в ноябре–декабре 2013 года.

В качестве объекта исследований использовали размножаемые *in vitro* регенеранты (экспланты) сорта “Tisel” смородины черной (*Ribes nigrum*), введенные и стабилизированные в культуре *in vitro* по методу, разработанному на базе НИЛ КТР ПолесГУ и изложенному в заявке о выдаче патента на изобретение №A20111446 от 31.10.2011 г.

Регенеранты получали в результате культивирования эксплантов, состоящих из двух метамеров, в колбах конических объемом по 100 мл, с 25 мл стерильной агаризованной, питательной среды на микро-, макро- солевой основе, с органическими соединениями по Андерсону (АН) [3, 4], Мурасиге и Скуга (MS) [4], и по WPM (woody plant medium) [3, 4], которые содержали фитогормоны – 6-бензиламинопурина (БАП) или индолилмасляную кислоту (ИМК), в соответствии с приведенными ниже вариантами опыта: MS без фитогормонов; MS без фитогормонов, но с удвоенным содержанием железа ($x2\text{ Fe}$); WPM без фитогормонов; WPM без фитогормонов ($x2\text{ Fe}$); AN без фитогормонов; AN без фитогормонов ($x2\text{ Fe}$); MS + 1,0 мг/л БАП + 0,1 мг/л ИМК; MS + 1,0 мг/л БАП; MS + 1,5 мг/л БАП; MS + 2,0 мг/л БАП; WPM + 1,0 мг/л БАП + 0,1 мг/л ИМК; WPM + 1,0 мг/л БАП; WPM + 1,5 мг/л БАП; WPM + 2,0 мг/л БАП; AN + 1,0 мг/л БАП + 0,1 мг/л ИМК; AN + 1,0 мг/л БАП; AN + 1,5 мг/л БАП; AN + 2,0 мг/л БАП; MS + 1,0 мг/л БАП + 0,1 мг/л ИМК + $x2\text{ Fe}$; WPM + 1,0 мг/л БАП + 0,1 мг/л ИМК + $x2\text{ Fe}$; AN + 1,0 мг/л БАП + 0,1 мг/л ИМК + $x2\text{ Fe}$. Общее количество исследуемых регенерантов составило не менее 840, а для каждого из 21 варианта опыта (включая контроли) в отдельности – не менее 40 шт. (четыре стеклянные емкости, по 10 регенерантов в каждой).

Основная цель исследований сводилась к анализу изменчивости семи количественных признаков – высота побегов (ВП), количество побегов (КП), количество листьев (КЛ), сырой вес регенеранта (СВР), процент укореняемости (ПУ), количества корней (КК) и длина корней (ДК) – у регенерантов сорта “Tisel” смородины черной *in vitro* на питательных, агаризованных средах, указанного выше типа, различающихся по фитогормональному составу и по содержанию железа. Учет количественных признаков производили через 28 дней культивирования регенерантов на стеллажах световой установки культурального помещения биотехнологической лаборатории при температуре $+24\pm 1^\circ\text{C}$, фотопериоде день/ночь – 16ч/8ч, освещенности 4000 лк при помощи двух люминесцентных ламп OSRAM L36W/76 Natura, и при относительной влажности воздуха 70%.

Общий математический анализ данных проводили по стандартным методам вариационной статистики [5], с использованием программы статистического анализа данных STATISTICA 6.0 [6]. Двухфакторный дисперсионный анализ данных и расчет доли влияния факторов на изменчивость исследуемых признаков проводили в программе статистического анализа AB-Stat 1.0, разработанной в Институте генетики и цитологии НАН Беларуси [7].

Результаты исследований приведены в таблице.

Однофакторный дисперсионный анализ установил высоко достоверное (при $P < 0,01$) влияние состава питательной среды на изменчивость всех исследуемых признаков, с долями влияния фактора 63,4–99,7%, в зависимости от исследуемого признака. Наиболее высокие показатели высоты побегов в пределах 1,85–2,45 см наблюдались на безгормональных питательных средах, при этом введение в состав питательных сред фитогормонов приводило к достоверному снижению высоты побегов в 1,2–2,3 раза, в зависимости от вариантов опыта (таблица). Наиболее высокие показатели количества побегов, напротив, наблюдались в большинстве случаев в присутствии фитогормонов, достоверно превышая в 1,2–3,1 раза показатели в контроле (таблица). Наиболее высокие показатели количества листьев, достоверно превышающие в 1,7–2,3 раза контрольные показатели, наблюдались в присутствии 1,0 мг/л БАП, причем установлена закономерность убывания показателей признака с возрастанием концентрации БАП от 1,0–2,0 мг/л (таблица). Наиболее высокие показатели сырого веса регенерантов наблюдались в присутствии фитогормонов в составе среды на основе MS (таблица), причем превышение по отношению к контрольным показателям составило в 2,0–2,5 раза. Наиболее высокий процент укореняемости растений наблюдался на безгормональных по составу питательных средах (таблица). Наиболее высокие показатели количества корней и длины корней также наблюдались на безгормональных питательных средах (таблица).

Таблица – Изменчивость количественных признаков у регенерантов *Ribes nigrum in vitro*

Вариант опыта	ВП, см	КП, шт.	КЛ, шт	СВР, г	ПУ, %	КК, шт	ДК, см
MS без фитогормонов	2,45±0,21	1,63±0,07	9,07±0,15	0,13±0,01	100±0,01	2,71±0,01	1,53±0,02
MS без фитогормонов; Fe*2	1,85±0,09	1,29±0,14	7,12±0,28	0,11±0,01	67,8±1,11	2,84±0,02	1,89±0,05
WPM без фитогормонов	2,24±0,01	1,57±0,09	9,03±1,06	0,12±0,01	76,22±2,32	4,53±0,2	2,07±0,04
WPM без фитогормонов; Fe*2	2,34±0,15	1,6±0,25	8,53±0,19	0,12±0,01	73,33±1,92	4,77±0,04	2,4±0,23
AN без фитогормонов	2,27±0,23	1,67±0,17	8,77±0,72	0,14±0,01	90±2,89	4,76±0,03	2,07±0,04
AN без фитогормонов; Fe*2	2,53±0,18	1,1±0,06	7,2±0,46	0,12	73,3±1,92	3,77±0,44	1,64±0,02
MS +БАП _{1,0} +ИМК _{0,1}	1,48±0,06	2,67±0,27	13,37±0,9	0,21	0	0	0
MS +БАП _{1,0}	1,46±0,1	3,33±0,5	16,03±1,71	0,26	10±2,89	1,75±0,06	0,9±0,12
MS +БАП _{1,5}	1,38±0,04	2,36±0,12	13,07±0,88	0,17	3,11±1,16	1,03±0,03	0,3±0,03
MS +БАП _{2,0}	1,46±0,08	2,23±0,09	11,53±0,61	0,16	0	0	0
WPM+ БАП _{1,0} +ИМК _{0,1}	1,38±0,04	1,57±0,18	9,55±0,47	0,11	3,15±1,16	1,03±0,03	2,1±0,06
WPM+ БАП _{1,0}	1,29±0,09	2,13±0,35	10,77±0,67	0,12	0	0	0
WPM+ БАП _{1,5}	1,3±0,13	1,53±0,09	8,7±0,52	0,12	0	0	0
WPM+ БАП _{2,0}	1,46±0,17	1,73±0,38	8,73±1,12	0,12	0	0	0
AN+ БАП _{1,0} +ИМК _{0,1}	1,46±0,05	2,8±0,76	11,8±0,67	0,17	0	0	0
AN+ БАП _{1,0}	1,26±0,05	1,97±0,35	10,67±0,57	0,13	0	0	0
AN+ БАП _{1,5}	1,37±0,12	1,67±0,22	9,2±0,91	0,11	0	0	0
AN+ БАП _{2,0}	1,41±0,04	1,97±0,38	11,87±1,19	0,16	0	0	0
MS +БАП _{1,0} +ИМК _{0,1} ; Fe*2	1,58±0,06	2,57±0,3	15,27±0,58	0,21	0	0	0
WPM+ БАП _{1,0} +ИМК _{0,1} ; Fe*2	1,27±0,07	2,13±0,28	10,67±1,29	0,15	3,11±1,16	2±0,12	1,55±0,03
AN+ БАП _{1,0} +ИМК _{0,1} ; Fe*2	1,12±0,06	2,7±0,15	14,13±0,78	0,13	0	0	0
НСР _{0,05}	0,3305	0,7520	2,3541	0,0023	3,5286	0,3125	0,1704
НСР _{0,01}	0,4422	1,0063	3,1499	0,0031	4,7213	0,4182	0,2280

Примечания. ВР – высота регенерантов, см; КП – количество побегов, шт; КЛ – количество листов, шт; СВР – сырой вес регенеранта, г; ПУ – процент укореняемости, %; КК – количество корней, шт; ДК – длина корней, см; НСР – наименьшая существенная разница при уровнях значимости $P < 0,05$ и $P < 0,01$; MS – среда Мурашиге-Скуга; WPM – среда woody plant medium; AN – среда Андерсона; БАП – бензиламинопурин; ИМК – индоллил-3-масляная кислота.

Таким образом, для максимального выхода побегов *in vitro*, в 2–3 раза превышающего соответствующие показатели в контроле, рекомендуется использовать питательную среду на основе MS, содержащую 1,0 мг/л БАП (таблица). Для укоренения практически всех регенерантов сорта “Tisel” смородины черной *in vitro* рекомендуется безгормональная основа питательной среды по MS (таблица). В дальнейшем планируется продолжить изучение изменчивости количественных и качественных признаков у разных сортов смородины черной на разных по гормональному составу питательных средах, для выявления генотипических реакций и подбора оптимальных составов питательных, агаризованных сред для размножения и укоренения *in vitro*.

Список использованных источников

1. Куминов Е.П. Смородина/ Е.П. Куминов, Т.В. Жидехина// – Харьков: Фолио; М.: ООО «Издательство АСТ», 2003. – 255 с.
2. Эрст А.А. Особенности размножения *Ribes aureum* Pursh и *Vaccinium uliginosum* L. в культуре *in vitro* / А.А. Эрст. – Дисс. на соиск. степ. канд. биол. наук. – Барнаул, 2010. – 165 с.
3. Сидорович Е.А. Клональное микроразмножение новых плодово-ягодных растений / Е.А. Сидорович, Е.Н. Кутас. – Мн., 1996. – 246 с.
4. Trigiano R.N. Plant tissue culture concepts and laboratory exercises / R.N. Trigiano, D.J. Gray. – US/MA, CRC Press LLC., 1999–2000. – 454 p.
5. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта / Б.А. Доспехов. – М., 1985. – 351 с.
6. Боровиков В.П. STATISTICA: Искусство анализа данных на компьютере / В.П. Боровиков. – СПб., 2001. – 650 с.
7. Анощенко Б.Ю. Программы анализа и оптимизации селекционного процесса растений / Б.Ю. Анощенко // Генетика. – М.: Наука, 1994. – Т.30. – Приложение. – С. 8–9.