

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ РАЗЛИЧНЫХ АБИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА МОРФОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ КУЛЬТУРЫ ТКАНИ МОРОШКИ ПРИЗЕМИСТОЙ (*RUBUS CHAMAEMORUS L.*)

М.П. Шалупаев

В настоящее время биотехнологические методы, в том числе и культура клеток и тканей *in vitro*, широко используются в программах по селекции растений. Тесное сотрудничество селекционеров и биотехнологов позволяет не только ускорить селекционный процесс, но и расширить генетическое разнообразие растений. Многие виды ягодных, плодовых, овощных, цветочных культур успешно размножаются с помощью культуры тканей. Большие количества посадочного материала мадины и ежевики в мире получают при помощи клонального микроразмножения. Культура клеток и тканей морошки приземистой в отличие от других видов рода *Rubus* не разработана. Морошка приземистая является редким видом для Республики Беларусь. Природные местообитания этого ягодного растения из-за антропогенного воздействия постоянно уменьшаются, в связи с чем вид занесен в Красную книгу Беларуси. Поэтому в связи с проблемой сохранения биологического разнообразия растительного мира на территории Беларуси изучение возможностей размножения морошки приземистой представляет большой научный и прикладной интерес. Условия образования адвентивных побегов могут быть использованы при разработке технологии ее клонального микроразмножения.

Целью работы являлось определение оптимальных условий для образования адвентивных побегов на эмбриональных эксплантах морозки приземистой (*Rubus chamaemorus L.*). В связи с целью наших исследований нами были определены следующие задачи: 1) определить оптимальный минеральный состав основной питательной среды и значение pH культуральной среды для выращивания зародышей морозки и формирования на них адвентивных побегов; 2) изучить воздействия различных фитогормонов на индукцию адвентивных побегов на зародышах морозки; 3) установить воздействие продолжительности периода прекультивирования на среде, не содержащей регуляторов роста; 4) определить влияние продолжительности времени индукции на формирование адвентивных побегов на зародышах морозки.

Исследования проводились в 1997-1999 гг. на базе Института Леса НАН Б в г. Гомеле.

Ягоды морозки собирали в Витебской области в клюквенном заказнике «Лонно» от свободноопыляемых растений. В это время ягоды были яркооранжевыми, что соответствует их полной спелости. Семена отделяли от мезокарпа и хранили в темноте при температуре $2-4^{\circ}\text{C}$. В качестве эксплантов использовали зрелые зародыши и семядоли. В качестве основной питательной среды использовали среду модифицированную Woody Plant Medium (WPM). Извлечение и посадку эксплантов проводили по стандартной методике. Пробирки с эксплантами культивировали на свету при температуре $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$, освещенности 2-4 тыс. лк и длине светового дня 16 часов. На каждый вариант опытов высаживали по 30-50 эксплантов. Для статистической обработки полученных данных определяли F-критерий Фишера для дисперсионного анализа качественных признаков при однофакторном эксперименте. Продолжительность каждого эксперимента составляла 50 дней. Через каждые 10 дней после начала культивирования проводили визуальную оценку развития эксплантов под микроскопом МБС-10 в течение 50 дней культивирования.

Наши исследования показали, что использование цитокининов в питательной среде существенно влияет на морфогенетические процессы культуры тканей морозки приземистой. Цитокинины увеличивают жизнеспособность эксплантов морозки в 1,3 раза. Присутствие их в среде является обязательным условием для образования адвентивных почек на эксплантах морозки. Наиболее подходящей средой для культивирования эксплантов морозки является WPM с полным набором микроэлементов. При ее использовании жизнеспособность эксплантов достигает 94%, а органогенез - 85%. Оптимальный pH среды для зародышей морозки лежит в кислой области (4,0 - 4,5). Для семядолей морозки оптимальным является pH в интервале от 5,0 до 6,0.

Бензиламинопурин является более эффективным цитокинином для индукции на эксплантах морозки адвентивных побегов, чем иминопурин и кинетин. Лучше всего стимулирует органогенез концентрация бензиламинопурина 2,0-5,0 мг/л. При повышении в питательной среде с 5 мг/л бензиламинопурина концентрации нафтилуксусной кислоты

наблюдается тенденция снижения жизнеспособности и интенсивности органогенеза у эксплантов морошки.

Наиболее оптимальным возрастом семядолей морошки для получения наибольшего числа органогенных эксплантов является 7 дней. При этом наблюдается достоверное увеличение числа органогенных эксплантов. Для эффективной индукции органогенеза на семядолях морошки необходимо их не менее чем двадцатидневное пребывание на среде, содержащей 5 мг/л бензиламинопурина.

На основании вышеизложенного можно заключить, что для индукции адвентивных побегов зародыши морошки необходимо культивировать на среде WPM, дополненной 2,0-5,0 мг/л бензиламинопурина, с рН, равным 4,0. Для семядолей морошки оптимальной питательной средой для индукции наибольшего числа адвентивных побегов является WPM, дополненная 2,0-5,0 мг/л бензиламинопурина, с рН в интервале от 5,0 до 6,0 после семидневного прекультивирования на безгормональной среде. При использовании этих сред частота органогенеза на эксплантах морошки превышает 80%.