

Национальная академия наук Беларуси
Центральный ботанический сад

Опыт и перспективы выращивания нетрадиционных ягодных растений на территории Беларуси и сопредельных стран

Материалы Международного научно-практического семинара
г. Минск — г. Ганцевичи, 28 сентября — 1 октября 2021 г.

Минск
«Медисонт»
2021

УДК 634.7
ББК 42.358-4я43
О-62

International Scientific and Practical Seminar
«Experience and prospects of growing of unconventional berry
plants in Belarus and neighbouring countries»

Редакционная коллегия:

В. В. Титок, д-р биол. наук, чл.-корр. НАН Беларуси;
Ж. А. Рупасова, д-р биол. наук, чл.-корр. НАН Беларуси;
Л. В. Гончарова, канд. биол. наук; *Н. Б. Павловский*, канд. биол. наук;
Т. И. Ленковец; *С. М. Кузьменкова*.

Рецензенты:

В. В. Титок, д-р биол. наук, чл.-корр. НАН Беларуси;
В. Н. Решетников, д-р биол. наук, академик НАН Беларуси.

Иллюстрации предоставлены авторами публикаций

О-62 **Опыт** и перспективы выращивания нетрадиционных ягодных растений на территории Беларуси и сопредельных стран : материалы Международного научно-практического семинара (г. Минск — г. Ганцевичи, 28 сентября — 1 октября 2021 г.) / Национальная академия наук Беларуси; Центральный ботанический сад ; редкол.: В. В. Титок [и др.]. — Минск : Медисонт, 2021. — 148 с.

ISBN 978-985-7261-71-0.

В сборнике представлены результаты исследований ученых Беларуси и России по проблемам и перспективам развития нетрадиционного ягодоводства культур, которые вызывают интерес и нарастающий спрос у потребителей и производителей: голубики высокой, клюквы крупноплодной, брусники обыкновенной, жимолости съедобной, калины обыкновенной, боярышника мягковатого, бузины черной и др. В материалах освещены этапы истории интродукции ягодных растений семейства *Ericaceae* Juss. в Беларусь, координации и научного сопровождения работ по развитию нетрадиционного промышленного ягодоводства, актуальные вопросы биохимии, биотехнологии, экологии, а также размножения, выращивания ягодных растений, хранения и переработки их плодов.

УДК 634.7
ББК 42.358-4я43

ISBN 978-985-7261-71-0

© Центральный ботанический сад
Национальной академии наук Беларуси, 2021
© Оформление. ООО «Медисонт», 2021

Влияние питательных сред на морфогенез интродуцированных сортов *Vaccinium vitis-idaea* L. в культуре *in vitro*

Е. Н. Кутас

Беларусь, Минск, Центральный ботанический сад НАН Беларуси

Вопросу влияния состава питательных сред на морфогенез в культуре клеток и тканей посвящена обширная литература. Ее анализ позволяет прийти к выводу, что морфогенез — сложный и многофакторный процесс, зависящий от типа и физиологического состояния экспланта, состава питательной среды, то есть компонентов, содержащихся в ней (макро- и микроэлементов, витаминов, углеводов, гормональных добавок) и целого ряда других факторов. Подтверждением тому могут служить экспериментальные исследования [1–7].

С целью разработки технологии клонального микроразмножения интродуцированных сортов брусники обыкновенной, было проведено изучение морфогенеза у четырех ее сортов ('Koralle', 'Masovia', 'Erntedank', 'Erntekrone') на трех типах питательных сред различных модификаций.

Объекты и методы исследования

В качестве объектов исследования использовали различные типы эксплантов перечисленных сортов. Эксплантами служили эпикотиль, гипокотиль, семядоли, корешок, листья ювенильных проростков, полученных нами ранее в асептических условиях на модифицированной питательной среде Андерсона, а также почки молодых побегов взрослого материнского растения.

Почки с кусочками стебля длиной 3–4 мм стерилизовали в 0,1 % растворе диацета на протяжении 10 мин., предварительно обмакнув в 70-градусный этиловый спирт, с последующим промыванием в трех сменах стерильной бидистиллированной воды (по 15 мин. в каждой).

Стерильный материал высаживали в колбы одинакового объема на три питательные среды: Мурасиге-Скуга, WPM, и Андерсона, различающиеся концентрацией макро- и микросолей, комбинацией гормональных добавок и других компонентов (табл. 1).

Высаженные экспланты культивировали при температуре 26 °С, относительной влажности воздуха 56 %, фотопериоде 16 ч, освещенности 4000 лк. Экспериментальный материал представлен в таблице 2. Цифры в таблице являются средними арифметическими с их стандартными ошибками.

Результаты и обсуждение

По истечении 5 недель из почек развились вегетативные побеги у всех сортов брусники обыкновенной. После их пересадки на свежую питательную среду наблюдали пролиферацию новых побегов третьего-четвертого порядков. За четыре недели культивирования из одного микрочеренка образовалось в среднем от 5 до 10 микропобегов в зависимости от состава питательной среды (табл. 2). Из всех исследованных типов сред наиболее активное побегообразование наблюдали на среде WPM (№ 8) и Андерсона (№ 9) (табл. 2), содержащей полный состав макро- и микросолей со следующими добавками в (мг/л): мезоинозит — 100, аденин сульфат — 80, тиамин — 0.4, индолилуксусная кислота — 4.0, изопентениладенин — 15, сахароза — 30 г/л, агар — 6 г/л, pH среды 4,0 (табл. 1).

Этот факт свидетельствует о том, что меняя количество и соотношение компонентов в питательной среде, можно добиться высокого уровня морфогенеза. В данном случае удалось активизировать развитие пазушных меристем путем снятия апикального доминирования и получить регенеранты.

Таблица 1 — Состав питательных сред для изучения морфогенеза у интродуцированных сортов *Vaccinium vitis-idaea*

Компонент, мг/л	Номер модификации среды								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Соли и витамины по MS	+	-	1/2	-	-	1/2	1/2	-	-
Соли и витамины по WPM	-	+	-	-	-	-	-	+	-
Соли и витамины по Андерсону	-	-	-	-	+	-	-	-	+
Мезоинозит	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Аденин сульфат	-	80	80	80	80	40	40	80	80
Тиамин	0,4	-	-	0,4	-	0,1	0,1	0,4	0,1
Пиридоксин	-	-	-	-	0,4	-	-	-	-
Индолилуксусная кислота	1,0	5,0	-	2,0	1,0	1,5	2,5	4,0	4,0
Гибберелловая кислота	-	4,0	-	-	-	-	-	-	-
Бензиламино-пурин	-	-	-	-	-	2,0	-	-	-
Изопентениладенин	10	10	2,0	5,0	4,0	-	10	15	15
Сахароза, г/л	20	20	20	20	20	20	20	30	30
Агар, г/л	6	6	6	6	6	6	6	6	6
pH	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0

Примечание.

Знак (+) — компонент присутствует в среде; знак (-) — компонент отсутствует в среде; 1/2 — половинная доза компонента в среде.

Спустя 4–5 пассажей почти у всех микрочеренков, высаженных для побегообразования, наблюдали ризогенез на среде (№ 8) и № 9, чего не было отмечено на средах других модификаций. Это служит доказательством универсальности этих типов сред для обоих морфогенетических процессов: побегообразования и ризогенеза.

Таблица 2 — Побегообразование у интродуцированных сортов *Vaccinium vitis-idaea* в зависимости от состава питательной среды

Номер модификации среды	Количество побегов на один экплант, шт.			
	'Koralle'	'Masovia'	'Erntedank'	'Erntekröne'
1	8,5 ± 1,2	7,9 ± 2,0	8,0 ± 1,0	7,6 ± 1,5
2	7,5 ± 1,5	7,0 ± 2,0	7,8 ± 1,4	7,4 ± 1,3
3	2,0 ± 1,0	2,5 ± 1,5	2,9 ± 0,0	2,4 ± 0,0
4	3,3 ± 1,5	5,0 ± 1,0	4,5 ± 1,2	5,0 ± 2,0
5	5,5 ± 1,0	5,0 ± 1,2	5,4 ± 2,0	4,1 ± 1,1
6	1,0 ± 1,0	0,9 ± 0,2	1,1 ± 0,5	1,7 ± 1,2
7	1,5 ± 1,1	1,8 ± 1,3	1,0 ± 0,0	1,9 ± 1,0
8	15,0 ± 2,0	14,0 ± 1,3	15,2 ± 2,7	14,7 ± 1,9
9	16,0 ± 2,5	15,0 ± 3,2	16,3 ± 2,3	15,5 ± 2,7

Образование корней у регенерантов интродуцированных сортов брусники обыкновенной на среде для побегообразования не исключает предположения о том, что в них содержится достаточно эндогенного ауксина, способного вызвать ризогенез.

У остальных экплантов (эпикотиль, гипокотиль, семядоли, корешок, листья) через 5–6 недель культивирования образовался органогенный каллус с последующей регенерацией из него вегетативных побегов.

При этом следует отметить, что образование органогенного каллуса и дальнейшая регенерация побегов характерны для экплантов (корешок, эпикотиль, гипокотиль, семядоли, листья), полученных из свежесобранных семян, а у экплантов — из стратифицированных семян побегообразование происходило минуя стадию образования каллуса, то есть непосредственно из ткани экпланта.

Можно предположить, что это связано с неодинаковостью протеканием физиологических, биохимических, цитологических и других процессов у экплантов из свежесобранных и стратифицированных семян, а также с разным содержанием эндогенных фитогормонов. Вероятно, все вместе взятое послужило основой

для регенерации побегов из каллуса без предварительного его пассирования на питательную среду другого состава. Другими словами, индукция каллусогенеза, а затем побегообразования происходили на среде одного и того же состава.

Высоким морфогенетическим потенциалом обладали все без исключения экспланты на двух средах: WPM и Андерсона трех модификаций (№ 4, № 5, № 9). В данном случае в основе морфогенеза лежит способность клеток эксплантов дедифференцироваться, то есть терять свою прежнюю специализацию и превращаться в каллусные клетки. Превращение специализированных клеток в каллусные связано с индукцией клеточного деления, способность к которому клетки потеряли в процессе дифференциации [8]. Согласно теории Скуга и Миллера, процесс морфогенеза начинается от перехода клетки к инициации организованного развития и является результатом изменения баланса между фитогормонами. Ими было установлено, что превышение содержания ауксина над цитокинином в среде вызывает индукцию корней; обратное соотношение то есть превышение цитокинина над ауксином, приводит к образованию почек и стеблевых побегов [9].

Можно полагать, что различия между клетками и тканями по содержанию эндогенных фитогормонов определяют разный характер их поведения в изолированной культуре и неодинаковые потребности в компонентах среды.

Каллусные клетки (за исключением ауксин- и цитокининнезависимых опухолевых клеток) не могут сами синтезировать фитогормоны в достаточных количествах, необходимых для индукции процессов морфогенеза, поэтому нуждаются в экзогенных регуляторах роста.

Каллусные клетки только при определенном соотношении цитокининов и ауксинов в среде могут перейти к организованному росту и формированию побегов. Это соотношение для каждого вида растения устанавливали экспериментальным путем.

Подтверждением тому могут служить многочисленные исследования, касающиеся регуляции морфогенеза в культуре клеток и тканей с помощью определенного соотношения ауксинов и цитокининов в питательной среде.

Нашими исследованиями показано, что для образования регенерантов у сортов *Vaccinium vitis-idaea* из каллусной ткани в питательную среду необходимо добавлять цитокинин и ауксин в следующих соотношениях: 2,5:1 (среда № 4), 4,0:1 (среда № 5), 3,75:1 (среда № 9).

Таким образом, на основании изучения морфогенеза, протекающего у эксплантов интродуцированных сортов *Vaccinium vitis-idaea* в культуре клеток и тканей на различных типах питательных сред (9 модификаций), показана принципиальная возможность регенерировать их двумя методами: 1) путем активации паушных меристем, 2) через пролиферацию каллуса и последующее образование из него побегов.

В заключение необходимо отметить, что результаты исследований, полученные при изучении морфогенеза у различных типов эксплантов интродуцированных сортов брусники обыкновенной на модифицированных питательных средах, использованы нами при разработке технологии клонального микроразмножения данных сортов.

Список использованной литературы

1. Сорока, А. И. Влияние состава среды на процессы каллусогенеза и регенерации в культуре пыльников льна / А. И. Сорока // Цитология и генетика. — 2004. — Т. 38. — № 2. — С. 20–25.
2. Ali, J. Protocol optimization for *in vitro* shoot multiplication of Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* L.) / J. Ali, K. Bantte, T. Feyissa // African Journal of Biotechnology. — 2017. — Vol 16. — № 2. — P. 87–90.
3. Effects of rooting media and indole-3-butyric acid (IBA) concentration on rooting and shoot development of *Duranta erecta* tip cuttings / Shiri Mejury [et al.] // African Journal of Plant Science. — 2019. — Vol. 13. — № 10. — P. 279–285.
4. Noreldaim, H. Effects of nutrient media constituents on growth and development of banana (*Musa* spp.) shoot tips cultured *in vitro* / H. Noreldaim // African Journal of Biotechnology. — 2012. — Vol. 11. — № 37. — P. 9001–9006.

5. Efficient adventitious shoot regeneration in *Vaccinium* spp. and *Rubus* spp. / A. Gajdosova [et al.] // J: Propagation of Ornamental Plants. — 2007. — № 5. — P. 109–114.
6. Hormonal regulation of gummosis and composition of gums from bulbs of hyacinth (*Hyacinthus orientalis*) / K. Miyamoto [et al.] // Journal of Plant Physiology. — 2015. — Vol. 174. — P. 1–4.
7. Hala, Al. A. Almobasher. Comparison Study On *In Vitro* morphogenesis of Mature and Immature Wheat (*Triticum aestivum* L.) Embryos / Al. A. Almobasher Hala // International Journal of Advanced Biotechnology and Research. — 2016. — Vol. 7. — № 3. — P. 1134–1141.
8. Бутенко, Р. Г. Экспериментальный морфогенез и дифференциация в культуре клеток растений / Р. Г. Бутенко. — М.: Наука, 1975. — 51 с.
9. Skoog, F. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured *in vitro* / F. Skoog, C. O. Miller // Indian. J. Plant. Physiol. — 1957. — №. 11. — P. 118–123.