

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ КЛОНИРОВАНИЯ ДЕКОРАТИВНЫХ ВИДОВ И ФОРМ КУСТАРНИКОВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В ОЗЕЛЕНЕНИИ В БЕЛАРУСИ

А. В. Батулев, Д. О. Зинович, Д. О. Симаш, В. В. Демидчик

ВВЕДЕНИЕ

Одной из проблем в современном городе является эффективность озеленения прилегающих территорий, садов и парков. При озеленении городов среди древесных форм все чаще используются кустарники, которые имеют высокий декоративный потенциал и способны дополнительно выполнять роль живых изгородей и «зеленых стен» [2].

В решении проблем озеленения все большее значение приобретают наукоемкие биотехнологические и биоинженерные подходы, такие как микроклональное размножение растений в условиях *in vitro* [1]. Микроклональное размножение обладает рядом преимуществ по сравнению с традиционными методами размножения растений: 1) позволяет получать растения, идентичные исходному фенотипу (часто высокоценному), что невозможно при размножении семенами; 2) позволяет «накапливать» посадочный материал круглый год, что невозможно при использовании маточных плантаций; 3) возможно получение безвирусного посадочного материала.

Перевод культуры *in vitro* в условия *ex vitro* представляет собой лимитирующую стадию микроклонального размножения, так как при этом погибает большая часть клонированных растений.

В связи с этим целью данной работы являлось разработать и оптимизировать технологии размножения *in vitro* некоторых декоративных видов и форм кустарников, используемых в озеленении в Беларуси.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования являлись *Forsythia x intermedia* «Golden Times», *Physocarpus opulifolius* «Diablo», *Hydrangea paniculata*, *Philadelphus coronarius*. В качестве первичных эксплантов использовались апикальные и латеральные зимние покоящиеся почки, а также молодые побеги, полученные путем выгонки (предварительного выращивания) в комнатных условиях крупных нестерильных ветвей.

Для успешного получения и выращивания асептических культур применяется поверхностная стерилизация растительных объектов. В

данном исследовании было протестировано около 20 видов стерилизующих смесей. Использовалась двух- и трехступенчатая стерилизация. В качестве вспомогательных стерилизующих агентов использовались этиловый спирт, перманганат калия, перекись водорода. В качестве основного – коммерческий препарат «Доместос» (действующее вещество – гипохлорид натрия) в различных концентрациях. Варьировалось также время обработки в зависимости от типа экспланта, а также от его способности переносить хлорсодержащие препараты без потери жизнеспособности.

Был протестирован рост эксплантов на следующих средах: MS: Murashige and Skoog Medium [4], WPM : Woody Plant Medium [3]. В качестве индукторов укоренение использовались ауксины (3-индолилуксусная кислота – ИУК). В качестве индукторов побегаобразования использовались цитокинины (6-бензиламинопурин – БАП, 2-изопентениладенин – 2ip).

Полученные *in vitro* микрочеренки высаживались на питательные среды с повышенным содержанием ауксинов с целью ускорения укоренения. В качестве индукторов ризогенеза использовались ИУК, индолил-3-масляная (ИМК), нафтилуксусная (НУК), 2,4 дихлофеноксиуксусная (2,4-Д) кислоты в концентрациях от 0,1 до 1 мг/л.

Результаты всех экспериментов учитывались спустя 21 сутки после начала субкультивирования

Оптимальные физические условия субкультивирования были следующими: температура: 26 ± 2 °С, освещенность: 3000 лк, фотопериод: 16 часов свет / 8 часов темнота.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Наилучшие результаты по стерилизации эксплантов были получены с использованием двухступенчатой стерилизации при обработке этанолом (70 %) в течении 1 мин и коммерческим хлорсодержащим препаратом «Доместос» (10 %) в течении 20 мин. В данном эксперименте учитывались контаминация грибной и бактериальной инфекцией эксплантов *Hydrangea paniculata*, использованных для получения асептической культуры, а также их жизнеспособность (рис. 1). Экспланты, полученные путем выгонки при комнатной температуре из спящих почек демонстрировали меньшую контаминацию грибной и бактериальной инфекцией, а также более высокую жизнеспособность по сравнению со спящими апикальными и латеральными спящими почками.

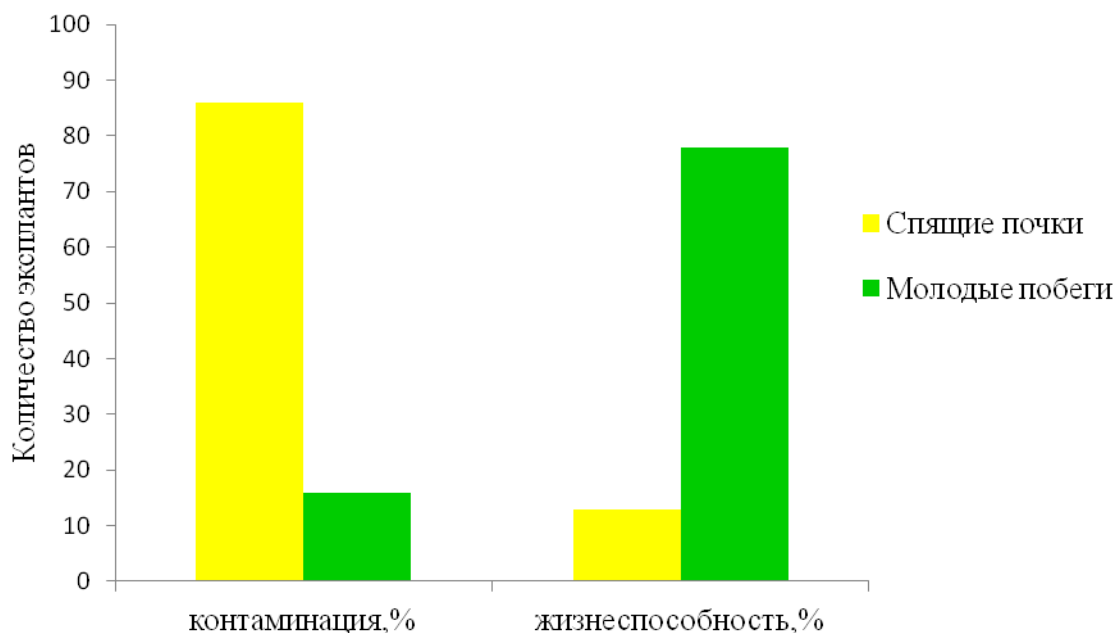


Рис. 1. Степень контаминации грибной и бактериальной инфекцией различных типов эксплантов *Hydrangea paniculata*

Для индукции побегообразования наиболее подходящей оказалась среда WPM, модифицированная 6-БАП в концентрациях 2-4 мг/л в зависимости от объекта (рис. 2). *Forsythia x intermedia* «Golden Times» и *Philadelphus coronaries* демонстрировали более активный рост при концентрации 6-БАП 2 мг/л (14,2 и 10,5 см соответственно), в то время как для развития микропобегов *Physocarpus opulifolius* «Diablo», *Hydrangea paniculata* требовалось 4 мг/л 6-БАП (13,4 и 10,6 см соответственно).

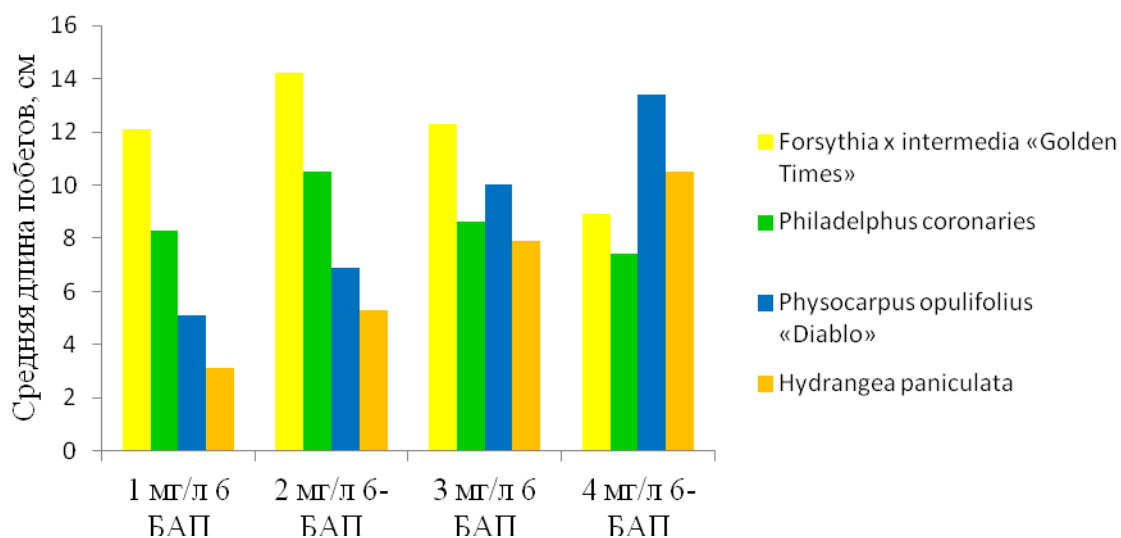


Рис. 2. Индукция побегообразования из стерильных эксплантов *Forsythia x intermedia* «Golden Times», *Physocarpus opulifolius* «Diablo», *Hydrangea paniculata*, *Philadelphus coronaries*

Полученные из эксплантов микрочеренки *Forsythia x intermedia* «Golden Times» высаживались на модифицированные питательные среды MS и WPM с повышенным содержанием ауксинов с целью их укоренения (рис. 3). Наиболее подходящей оказалась среда, содержащая соли по прописи MS в половинной концентрации с добавлением 10 мг/л сахарозы и 0,4 мг/л НУК.

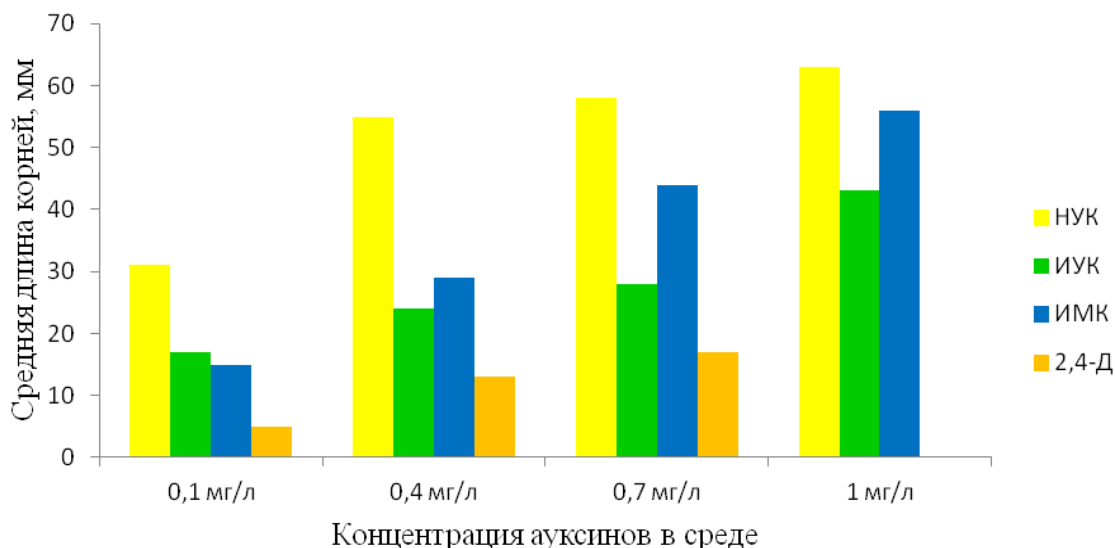


Рис. 3. Индукция ризогенеза *Forsythia x intermedia* «Golden Times»

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проведенной работы были разработаны и адаптированы технологии микрклонального размножения высокоценных для озеленительной индустрии кустарников (*Forsythia x intermedia* «Golden Times», *Physocarpus opulifolius* «Diablo», *Hydrangea paniculata*, *Philadelphus coronaries*). Начаты эксперименты по подбору методов выведения полученных клонов в условия *ex vitro*, а также оптимизация всех стадий микроклонирования для создания методик получения растений-регенерантов в промышленных масштабах.

Литература

1. Бутенко. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений / М., «Наука», 1964.
2. Константинов. Особенности регенерации побегов форсайтии европейской (*Forsythia europaea* Degen et Bald.) в стерильной культуре // Modern Phytomorphology. Society 6. 2014. P. 225–230.
3. Lloyd, McCown . Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture // International Plant Propagators. Society 30. 1981. С. 421–427.

4. *Murashige, Skoog*. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture // *Physiol. Plant*. 1962. V.15. P. 473–497.

ВЛИЯНИЕ ИОННОГО СОСТАВА СРЕДЫ НА ПАРАМЕТРЫ НАКОПЛЕНИЯ КАДМИЯ РАСТЕНИЯМИ

В. В. Буховец

В связи с возрастающим использованием тяжелых металлов в производственных процессах возрастает их эмиссия в окружающую среду, в результате чего происходит загрязнение экосистем. Среди такого рода поллютантов в условиях Беларуси значительное место занимают поливалентные тяжелые металлы. В данной работе изучался такой тяжелый металл, как кадмий, т.к. он вносится в почву сельскохозяйственных угодий вместе с фосфорными удобрениями. И хотя сегодня его содержание в почве чаще всего не превышает предельно-допустимой концентрации, завтра оно может его превысить, так как тяжелые металлы никуда из почвы не уходят и только накапливаются.

Известно, что металлы-загрязнители, в частности, кадмий, поглощаются растением вместе с элементами минерального питания в ионной форме из почвенного раствора и обменной части почвенного поглощающего комплекса. В этом процессе участвуют расположенные на плазматической мембране поглотительных клеток корня механизмы ионного транспорта, включая ионные каналы разных видов и системы активного транспорта, использующие для переноса ионов в клетку энергию метаболизма [1]. Значительную роль в этом процессе играет мембранная разность электрических потенциалов, которая является движущей силой перемещения катионов из раствора в клетку через плазматическую мембрану преимущественно по ионным каналам. Очевидно, что в такой системе минеральный состав среды может играть существенную роль как для скорости процессов входа ионов металла в клетку, так и для конечного уровня его накопления в растении.

Подобное влияние, известное как «калиевая терапия» хорошо изучено и применяется на практике для радионуклидного загрязнения сельскохозяйственных земель радиоцезием. В этом случае наблюдается значительный, в разы, эффект снижения загрязнения продукции растениеводства нуклидом при повышении уровня калия в почве. Однако для двухвалентного радиостронция эффективность калиевой терапии существенно меньше, но все же наблюдается [2].

Большинство работ, посвященных экологическим аспектам проблемы загрязнения почв тяжелыми металлами, посвящены их фитотоксическим эффектам [4]. В то же время экологически важные вопросы, связанные с