

УДК 573.6:634.11:631.53

**РОСТОВЫЕ РЕАКЦИИ
ЭКСПЛАНТОВ СЛИВЫ IN VITRO
ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ
ПРЕПАРАТОВ ГРУППЫ
ЯНТАРНОЙ КИСЛОТЫ**

Бунцевич Леонид Леонтьевич
канд. биол. наук
зав. лабораторией вирусологии
leobun@mail.ru

Беседина Екатерина Николаевна
мл. научный сотрудник
caterina.paletskaya@mail.ru

Костюк Марина Александровна
мл. научный сотрудник
marina_winter@mail.ru

*Федеральное государственное
бюджетное научное учреждение
«Северо-Кавказский зональный
научно-исследовательский институт
садоводства и виноградарства»,
Краснодар, Россия*

Для современного клонального микроразмножения большой интерес представляют малотоксичные, бюджетные регуляторы роста нового поколения, в частности производные органических кислот, полученные при переработке продуктов сельскохозяйственного производства. Данные препараты проходят широкие испытания в аграрном производстве, в культуре *in vitro* их испытание ранее не проводилось. Настоящая работа выполнена с целью изучения характера ростовых реакций эксплантов и определения оптимального соотношения и концентрации вновь синтезированных и традиционных стимуляторов роста на этапе собственно микроразмножения эксплантов сливы. Объектом исследования послужила слива сорта Стенлей. В результате проведенных исследований выявили, что на питательных средах, где в качестве стимулятора роста

UDC 573.6:634.11:631.53

**GROWTH REACTIONS
OF PLUM'S PLANTLETS
IN VITRO WHEN USING
PREPARATIONS OF AMBER
ACID'S GROUP**

Buntsevich Leonid
Cand. Biol. Sci.
Head of Laboratory of Virology
leobun@mail.ru

Besedina Ekaterina
Junior Research Associate
caterina.paletskaya@mail.ru

Kostyuk Marina
Junior Research Associate
marina_winter@mail.ru

*Federal State Budgetary Scientific
Institution «North Caucasian
Regional Research Institute
of Horticulture and Viticulture»,
Krasnodar, Russia*

For modern clonal micro propagation the great interest is represented by low-toxic, environmentally friendly, budgetary growth regulators of new generation, in particular the derivatives of organic acids received when processing waste of agricultural production. These preparations pass the broad tests in agrarian production, but *in vitro* culture their test wasn't carried out. This work is performed for the purpose of study of plantlets' growth reactions and definition of an optimum ratio and concentration of new and traditional growth factors at a stage of regeneration and multiplication of plum micro shoots. As object of research the plum of Stanley variety is served. As a result of the conducted research it is revealed that on nutrient mediums where as a growth factor amber acid 4 mg/l

была использована янтарная кислота 4 мг/л, коэффициент размножения за пассаж (3,5) такой же, как и на среде со стандартными стимуляторами – БАП 0,2 мг/л и ГК 1,2 мг/л, несколько меньший коэффициент размножения (3,3) – на среде с сукцинатом калия 4 мг/л. Использование янтарной кислоты и сукцинатов калия и натрия в концентрации 4 мг/л способствует значительному снижению уровня хлороза микропобегов (на 53,9, 48 и 31,5 % соответственно) и улучшает их общее состояние (на 1,3; 1,2 и 0,9 балла по пятибалльной шкале соответственно). Количество образовавшихся листьев на микропобегах существенно, на 4,1-4,4 шт., увеличивает применение янтарной кислоты и сукцината натрия 4 мг/л, по сравнению со стандартом (БАП 0,2 мг/л и ГК 1,2 мг/л).

Ключевые слова: СЛИВА, КЛОНАЛЬНОЕ МИКРОРАЗМНОЖЕНИЕ, СТИМУЛЯТОРЫ РОСТА НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ, КОЭФФИЦИЕНТ РАЗМНОЖЕНИЯ

was used, the reproduction coefficient for a passage (3,5) is the same, as well as on the medium with standard stimulators – BAP 0,2 mg/l and GA 1,2 mg/l, a little smaller coefficient of reproduction (3,3) – on the medium with potassium succinate. Use of amber acid, potassium succinate and sodium succinate in concentration 4 mg/l considerably reduces the level of micro shoots' chlorosis (by 53,9, 48 and 31,5% respectively), improves their general state (on 1,3; 1,2 and 0,9 points on a five-point scale respectively). The using of amber acid and a sodium succinate 4 mg/l significantly increases the quantity of the formed leaves on microshoots, on 4,1 - 4,4 pieces, in comparison with the standard (BAP 0,2 mg/l and GA 1,2).

Key words: PLUM, CLONAL MICRO PROPAGATION, GROWTH FACTORS OF NEW GENERATION, REPRODUCTION COEFFICIENT

Введение. Известно, что многие проблемы и направления селекции плодовых культур, такие как невсхожесть семян при отдалённой гибридизации, получение соматических гибридов и др., эффективно решаются методом клонального микроразмножения. Однако клональное микроразмножение – сложный физиологический процесс, зависящий от многих факторов. Для современного уровня процесса клонального микроразмножения большой интерес представляют малотоксичные, экологически безопасные регуляторы роста нового поколения, в частности производные органических кислот, полученные при переработке продуктов сельскохозяйственного производства.

Эффективность клонального микроразмножения плодовых культур в значительной степени определяется правильным выбором состава пита-

тельной среды. При этом основную роль играет оптимальное соотношение и концентрация внесенных в питательную среду биологически активных веществ (регуляторов роста).

Современная химическая наука синтезировала новые препараты с предполагаемыми свойствами стимуляторов роста растений. Среди них большой потенциальный интерес представляют производные органических кислот, полученные при переработке продуктов сельскохозяйственного производства. Это малотоксичные, экологически чистые, бюджетные регуляторы роста нового поколения. Синтезированные препараты проходят широкие испытания в аграрном производстве [1-4]. В культуре *in vitro* для микроразмножения сливы их ранее не использовали, испытание *in vitro* на сливе проводились впервые [5].

Настоящая работа выполнена с целью изучения характера ростовых реакций эксплантов и определения оптимального соотношения и концентрации вновь синтезированных и традиционных стимуляторов роста на этапе микроразмножения эксплантов сливы *in vitro*.

Объекты и методы исследований. Клональное микроразмножение провели согласно методикам Высоцкого [6], Джигадло [7]. Материально-техническая база НИР – лаборатория вирусологии Северо-Кавказского зонального НИИ садоводства и виноградарства.

Были испытаны новые, ранее не применявшиеся в клональном микроразмножении сливы стимуляторы роста: препараты сукцинат калия, сукцинат натрия, янтарная кислота. Данные ростовые вещества добавляли в среду в концентрации 4 мг/л. В качестве контроля использовали стандартную среду для регенерации и элонгации микропобегов ½ МС с БАП 0,2 мг/л и ГК 1,2 мг/л. Тестируемые регуляторы роста – отходы производства фурфурола, выделенные сотрудниками кафедры химии КубГТУ под руководством доктора хим. наук Л.А. Бадовской и доктора хим. наук, проф. В.В. Посконина.

Сукцинат калия и натрия – калиевая и натриевая соль янтарной кислоты, применяются в пищевой промышленности как регуляторы кислотности, содержатся во всех живых клетках, также применяются как биологически активные добавки [8, 9].

Янтарная кислота – органическая кислота, содержится в незначительном количестве в буром угле, янтаре, в растениях и животных организмах; является промежуточным продуктом цикла трикарбоновых кислот. Ее используют для получения инсектицидов, лекарственных веществ, а также для синтеза полиядерных ароматических углеводов [10].

Стимуляторы роста добавляли в питательные среды непосредственно перед автоклавированием. Объектами исследований послужили экспланты сливы сорта Стенлей.

Экспланты культивировали в специальной светоконате при верхнебоковом освещении. Источник освещения – люминесцентные лампы типа ЛДЦ-80. Культивирование проводилось при 16-часовом световом дне, освещенности 3,5-5 тыс. лк, температуре 23-26°C и относительной влажности воздуха в помещении 70-75%.

Изучение ростовых реакций эксплантов сливы *in vitro* при использовании препаратов группы янтарной кислоты проведено нами на этапе регенерации и мультипликации микропобегов. В опытах использовали питательную среду для элонгации микропобегов, приготовленную на основе минеральных солей по Мурасиге и Скугу (1962), витаминов (тиамин, пиридоксин, никотиновой кислоты по 0,5 мг/л), сахарозы 22,5 г/л, бактериологического агар-агара 8 г/л.

Ростовые реакции эксплантов сливы на применение различных видов препаратов оценивали по уровню регенерации (число нормально регенерировавших эксплантов к числу изначально высаженных) и морфологическим показателям регенерантов спустя месяц культивирования.

Схема опыта включает 4 варианта:

- 1) среда МС с 0,2 мг/л БАП и 1,2 мг/л ГК (стандарт);
- 2) среда МС с 4 мг/л сукцината калия;
- 3) среда МС с 4 мг/л сукцината натрия;
- 4) среда ½ МС с 4 мг/л янтарной кислоты.

Обсуждение результатов. Как видно из полученных результатов исследований, приведенных в таблице, на среде, где в качестве стимулятора роста была использована янтарная кислота, коэффициент размножения за 30 дней культивирования такой же (3,5), как и на среде со стандартными стимуляторами – БАП и ГК, несколько меньший коэффициент размножения (3,3) – на среде с сукцинатом калия.

Качественный анализ регенерированных микропобегов сливы сорта Стенлей

Испытуемые компоненты сред	Коэффициент размножения, ед.	Наличие стволика, % от общего числа	Хлороз, %	Число листьев, шт.	Наличие корней, %	Наличие каллуса, %	Выделение фенола, %	Общ.сост-е в баллах (по 5 б. шкале)	Длина микропобегов (высота), мм
1. Контроль. БАП 0,2 мг/л и ГК 1,2 мг/л	3,5	100	58,2	6,1	0	0	0	3,3	11,8
2. Янтарная кислота 4 мг/л	3,5	100	4,3	10,2	0	13	0	4,9	14,7
3. Сукцинат калия 4 мг/л	3,3	100	10,2	7	0	0	0	4,8	11,7
4. Сукцинат натрия 4 мг/л	3,1	100	26,7	10,5	0	0	0	4,1	14,3
НСР ₀₅	0,2		28,5	2,6				0,9	1,9

Использование янтарной кислоты и сукцинатов калия и натрия значительно снижает уровень хлороза микропобегов (на 53,9, 48 и 31,5 %, со-

ответственно), улучшает их общее состояние (на 1,3; 1,2 и 0,9 балла по пятибалльной шкале, соответственно). Количество образовавшихся листьев на экспланте существенно, на 4,1-4,4 шт., увеличивает применение янтарной кислоты и сукцината натрия по сравнению со стандартом (рис.).

Таким образом, применение янтарной кислоты и её солей – сукцината натрия и калия, эффективно при клональном микроразмножении сливы сорта Стенлей. Коэффициент размножения при этом сохраняется на уровне стандарта или на несколько десятых единиц ниже.



а



б



в



г

Рис. – Регенерированные микропобеги сливы сорта Стенлей на средах с различными композициями стимуляторов роста: а – с сукцинатом натрия 4 мг/л; б – с сукцинатом калия 4 мг/л; в – с янтарной кислотой 4 мг/л; г – с БАП 0,2 мг/л и ГК 1,2 мг/л

Закономерность изменения ростовых реакций микропобегов сливы при добавлении в питательную среду янтарной кислоты и её солей (сукцината натрия и калия) проявляется в увеличении количества регенериро-

ванных листьев, при этом значительно снижается уровень хлороза, а также существенно улучшается общее состояние микропобегов.

Выводы. Изучение закономерностей изменений ростовых реакций эксплантов сливы *in vitro* в условиях варьирования основных компонентов питательных сред показало, что при введении в питательную среду янтарной кислоты (4 мг/л), используемой в качестве стимулятора роста, коэффициент размножения за пассаж (3,5) был таким же, как и на среде с использованием стандартных стимуляторов – БАП 0,2 мг/л и ГК 1,2 мг/л, несколько меньший коэффициент размножения (3,3) – на среде с сукцинатом калия (4 мг/л).

Введение в питательную среду янтарной кислоты, сукцинатов калия и натрия в концентрации 4 мг/л способствует значительному снижению уровня хлороза микропобегов (на 53,9, 48 и 31,5 % соответственно) и улучшает их общее состояние (на 1,3; 1,2 и 0,9 балла по пятибалльной шкале, соответственно). Кроме того, применение янтарной кислоты и сукцината натрия (4 мг/л) стимулирует образование листьев на микропобегах, число которых на 4,1-4,4 шт. больше, чем на стандартной среде с БАП 0,2 мг/л и ГК 1,2 мг/л.

Литература

1. Указания по опытно-производственному применению янтарной кислоты на сахарной свекле. – М.: ВАСХНИЛ, 1988. – 4 с.
2. Ненько, Н.И. Применение регуляторов роста в питомниководстве косточковых и семечковых культур / Н.И. Ненько, А.П. Кузнецова, А.А. Воронов, А.Н. Стародубцев, Л.А. Бадовская, В.П. Посконин // Садоводство и виноградарство.– 2009.– №4.– С. 6-9.
3. Бунцевич, Л.Л. Управление ростом и развитием саженцев яблони с помощью удобрений и стимуляторов роста / Л.Л. Бунцевич, А.Т. Киян, М.А. Костюк, Е.Н. Беседина, М.В. Макаркина // Агро XXI. – 2014. – №10-12. – С. 38-39.
4. Гаража, В.В. Влияние синтетического регулятора роста растений фуrolан на формирование белково-углеводного комплекса зерна озимой мягкой пшеницы: дис. ... канд. биол. наук: 03.00.23 / Гаража Валентина Владимировна. – Краснодар. – 2006. – 182 с.

