

УДК 634.7
DOI: 10.24419/LHI.2304-3083.2018.2.10

Влияние способов стерилизации и типов эксплантов жимолости синей на их жизнеспособность в условиях *in vitro*

С. С. Макаров – Центрально-европейская лесосеменная опытная станция, филиал Всероссийского научно-исследовательского института лесоводства и механизации лесного хозяйства, старший научный сотрудник, аспирант, Кострома, Российская Федерация, takarov_serg44@mail.ru

И. Б. Кузнецова – Костромская государственная сельскохозяйственная академия, доцент, кандидат сельскохозяйственных наук, Кострома, Российская Федерация

В. С. Смирнов – Костромская государственная сельскохозяйственная академия, студент, Кострома, Российская Федерация

В статье представлены результаты исследований по изучению эффективности различных стерилизаторов при введении эксплантов жимолости синей в культуру *in vitro*, а также жизнеспособности меристем, изолированных из различных побегов и почек следующих сортов *Lonicera ceruleae* L.: Андерма, Берель, Голубое веретено, Длинноплодная, Морена, Нимфа, Роксана. Изолированные почки культивировали на питательной среде, содержащей минеральные соли и витамины по прописи Мурасиге – Скуга.

Ключевые слова: жимолость, клональное микроразмножение, стерилизаторы, типы эксплантов, введение в культуру *in vitro*

Для ссылок: <http://dx.doi.org/10.24419/LHI.2304-3083.2018.2.10>
Макаров, С. С. Влияние способов стерилизации и типов эксплантов жимолости синей на их жизнеспособность в условиях *in vitro* [Электронный ресурс] / С. С. Макаров, И. Б. Кузнецова, В. С. Смирнов // Лесохоз. информ. : электрон. сетевой журн. – 2018. – № 2. – С. 96–101. URL: <http://lhi.vniilm.ru/>

Жимолость синяя (*Lonicera ceruleae* L.) пользуется все возрастающей популярностью, особенно у населения, проживающего в северной части страны. Эта культура неприхотлива, зимостойка, процесс вегетации у нее начинается очень рано, при этом она не повреждается заморозками, так как даже во время цветения выдерживает понижение температуры до -7...-8 °С. Плоды жимолости поспевают раньше земляники садовой, обладают богатым набором минеральных элементов, витаминов, содержат сахара, органические кислоты, антиоксиданты, биологически активные вещества.

Высокий спрос населения на посадочный материал жимолости синей традиционные способы вегетативного размножения удовлетворить не позволяют. Исправить ситуацию можно с помощью метода клонального микроразмножения, который позволяет получить в короткий срок необходимое количество сортового оздоровленного посадочного материала [1, 2].

Цель исследований – изучить эффективность разных стерилизаторов при введении эксплантов жимолости синей в культуру *in vitro*, а также жизнеспособность различных типов эксплантов исследуемых сортов.

Исследования проводили в лабораториях биотехнологии филиала ФБУ ВНИИЛМ «Центрально-европейская ЛОС» и в Костромской государственной сельскохозяйственной академии. Эффективность стерилизаторов при введении эксплантов в культуру *in vitro* изучали на растениях жимолости сорта Морена. Количество эксплантов составило 30 шт. При этом почки помещали в растворы стерилизаторов с различной экспозицией: моющее средство «Белизна»,

разведенное водой в соотношении 1:5 (15 мин), «Доместос» – 1:5 (15 мин), 5%-й раствор экостерилизатора (бесхлорного) – 1:1 (15 мин), сулема 0,1% (5 мин). После этого почки многократно промывали стерильной дистиллированной водой. В качестве контроля использовали «Белизну», разведенную 1:5 (15 мин). Мы применяли новый препарат (экостерилизатор) – кислородсодержащий бесхлорный отбеливатель Sinergetic (производитель ООО «Синергетик», г. Нижний Новгород). Это экологически чистый продукт, содержащий только натуральные компоненты, – дистиллированную воду, Н-тензиды (на основе глюкозы), до 15% активного кислорода.

Апексы побегов меристем размером 0,5–1,0 мм изолировали из асептических почек растений жимолости и помещали на питательную среду Мурасиге – Скуга (MS) с добавлением 6-БАП в концентрации 0,5 мг/л. Эффективность стерилизации рассчитывали по отношению количества неинфицированных эксплантов к числу эксплантов, введенных в культуру *in vitro* (в процентах).

В результате исследований установлено, что эффективность стерилизации почек с помощью моющих средств «Белизна» и «Доместос», разведенных 1:5 (экспозиция 15 мин каждый), составила 53 и 63% соответственно. Наибольшим стерилизующим эффектом обладали раствор отбеливателя Sinergetic, разведенный 1:1 (экспозиция 15 мин) и 0,1%-й раствор сулемы (экспозиция 5 мин), где все экспланты (30 шт.) оказались неинфицированными (табл. 1).

Для изучения влияния типа экспланта и сорта на жизнеспособность меристем в условиях *in vitro* мы отбирали почки с одревесневших побегов и стерильных зеленых черенков

Таблица 1. Влияние различных стерилизаторов при введении в культуру *in vitro* эксплантов жимолости сорта Морена

Стерилизатор	Экспозиция, мин	Эффективность стерилизации, %
Белизна, разведенная в пропорции 1:5	15	53
Доместос, разведенный в пропорции 1:5	15	63
Экостерилизатор, разведенный в пропорции 1:1	15	100
Сулема 0,1%	5	100

следующих сортов жимолости: Андерма, Берель, Голубое веретено, Длинноплодная, Морена, Нимфа, Роксана. После стерилизации из верхушечных и боковых почек одревесневших побегов вычленили экспланты меристем размером 0,5–1,0 мм и высаживали *in vitro* на питательную среду Мурасиге-Скуга, содержащую 0,5 мг/л 6-БАП. Кроме того, мы вычленили меристемы апикальных и пазушных почек из стерильных зеленых черенков, культивируемых *in vitro*, и высаживали на такую же питательную среду.

Культуру апикальных меристем использовали для оздоровления растений, так как в стеблевой апекс вирусы проникают медленнее, чем в другие части растений. Однако у введенных в культуру *in vitro* растений-регенерантов при дальнейших пассажах иногда может проявиться внутренняя инфекция. С целью оздоровления и освобождения от внутренней инфекции размноженных *in vitro* растений мы дополнительно вычленили апикальные меристемы для получения стерильной, хорошо растущей культуры.

Культивирование эксплантов *in vitro* осуществляли в культуральной комнате при освещенности до 1 тыс. лк, фотопериоде 16 ч, температуре 23–25 °С и относительной влажности воздуха 70%. Приживаемость меристем, изолированных из различных побегов и почек, определяли на 30-е сут.

Жизнеспособность эксплантов существенно различалась в зависимости от места вычленения меристем. Лучшей приживаемостью отличались меристемы стерильных зеленых черенков, культивируемых *in vitro* из пазушных и апикальных почек, – в среднем 81 и 70% соответственно (табл. 2).

Жизнеспособность меристем из апикальных почек одревесневших черенков была ниже и составляла в среднем 55%. Наименьшая жизнеспособность наблюдалась у меристем из пазушных почек одревесневших черенков – в среднем 36,4%.

Жизнеспособность аналогичных типов эксплантов *in vitro* в зависимости от сорта варьировалась в пределах 7–11%, а в среднем она составляла 60–62%.

Выводы.

1. Раствор бесхлорного отбеливателя Sinergetic, разведенного 1:1 (экспозиция 15 мин), не уступал по эффективности 0,1%-му раствору сулемы (экспозиция 5 мин) и значительно превосходил растворы моющих средств «Белизна» и «Доместос», разведенных 1:5, при экспозиции 15 мин.

2. Жизнеспособность меристем *in vitro* зависела от исходного фрагмента растения и местоположения почек на нем. Меристемы стерильных зеленых черенков отличались более высокой приживаемостью в культуре *in vitro*, чем из одревесневших побегов. У стерильных зеленых че-

Таблица 2. Жизнеспособность меристем в зависимости от типа экспланта и сорта, %

Сорт жимолости	МЕРИСТЕМЫ ИЗ ОДРЕВЕСНЕВШИХ ЧЕРЕНКОВ ПОСЛЕ СТЕРИЛИЗАЦИИ		МЕРИСТЕМЫ ИЗ СТЕРИЛЬНЫХ ЗЕЛЕННЫХ ЧЕРЕНКОВ, КУЛЬТИВИРУЕМЫХ <i>IN VITRO</i>	
	АПИКАЛЬНЫЕ ПОЧКИ	ПАЗУШНЫЕ ПОЧКИ	АПИКАЛЬНЫЕ ПОЧКИ	ПАЗУШНЫЕ ПОЧКИ
Андерма	57±0,31	30±0,41	73±0,29	81±0,34
Берель	59±0,35	39±0,29	67±0,33	78±0,29
Голубое веретено	58±0,26	31±0,32	74±0,31	79±0,45
Длинноплодная	57±0,32	37±0,37	73±0,28	80±0,33
Морена	51±0,36	39±0,38	72±0,32	82±0,42
Нимфа	49±0,40	38±0,29	68±0,34	85±0,25
Роксана	56±0,31	41±0,38	64±0,39	84±0,35
Среднее	55,3	36,4	70,1	81,3

ренков отмечалась более высокая жизнеспособность меристем из пазушных почек, а у одревесневших побегов – из апикальных.

3. Жизнеспособность аналогичных типов эксплантов *in vitro* в зависимости от сорта различалась незначительно.

Список использованной литературы

1. Куклина, А. Г. Опыт клонального микроразмножения голубых жимолостей / А. Г. Куклина, Е. А. Семерикова, О. И. Молканова // Бюл. Гл. ботан. сада. – Вып. 185. – 2003. – С. 160–167.
2. Скворцов, А. К. Голубые жимолости / А. К. Скворцов, А. Г. Куклина. – М. : Наука, 2002. – 160 с.

References

1. Kuklina, A. G. Opyt klonal'nogo mikrorazmnozheniya golubyh zhimolostej / A. G. Kuklina, E. A. Semerikova, O. I. Molkanova // Byul. Gl. botan. sada. – Vyp. 185. – 2003. – S. 160–167.
2. Skvorcov, A. K. Golubye zhimolosti / A. K. Skvorcov, A. G. Kuklina. – M. : Nauka, 2002. – 160 s.

Influence of Sterilization Methods and Types of Blue Honeysuckle Explants on their Viability under in vitro Conditions

S. Makarov – Central European Lesosemennaja Experimental Station, Branch Research Institute for Silviculture and Mechanization of Forestry, Senior Researcher, Postgraduate, Kostroma, Russian Federation, makarov_serg44@mail.ru
I. Kuznecova – Kostroma State Agricultural Academy, Associate Professor, Candidate of Agricultural Sciences, Kostroma, Russian Federation
V. Smirnov – Kostroma State Agricultural Academy, Student, Kostroma, Russian Federation

Keywords: honeysuckle, clonal micropropagation, sterilizers, explants, in vitro.

The article presents the results of studies on the efficacy of various sterilizers with the introduction of blue honeysuckle explants into the culture in vitro, as well as the viability of meristems isolated from various shoots and buds of 7 varieties of *Lonicera ceruleae* L.: Anderma, Berel, Blue Spindle, Longfruit, Morena, Nymph, Roxanne. Isolated buds cultured on the MS culture medium containing mineral salts and vitamins.

The greatest sterilizing effect (100%) is a solution of Sinergetic bleach in dilution with water 1: 1 (15 min exposure) and 0,1% solution of mercuric chloride (exposure 5 min), where as the efficiency of kidney sterilization with detergents "Belizna" and "Domestos" with dilution with water 1: 5 and exposure 15 min is significantly lower (53% and 63% respectively).

The viability of meristems in vitro depends on the initial fragment of the plant and the location of the kidneys on it. Meristems of sterile green cuttings characterized by a higher survival rate in culture in vitro (64–85 %) than from lignified shoots (30–59%). A higher viability of meristem from axillary buds is noted in sterile green cuttings (81,3 %), from apical – in lignified shoots (55,3%). The viability of similar types of explants in vitro depending on the variety varies insignificantly (78–85%).