

ВЛИЯНИЕ СРОКОВ ВВЕДЕНИЯ НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ ПЕРВИЧНЫХ ЭКСПЛАНТОВ И ИНДУКЦИЮ МОРФОГЕНЕЗА КАННЫ САДОВОЙ (*CANNA HYBRIDA HORT*) В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*

А.Ш. ТЕВФИК, И.В. МИТРОФАНОВА, доктор биологических наук
Никитский ботанический сад – Национальный научный центр

Введение

При оформлении садов и парков большую роль играют растения, которые способны создавать крупные красочные массивы и имеющие продолжительное цветение. Одной из таких культур является канна садовая (*Canna hybrida hort*). Эта декоративная культура хорошо переносит пониженную влажность воздуха, в приморских районах – морские брызги [2, 7]. В настоящее время известно, что канна садовая сильно поражается вирусными болезнями [8]. Сорты канны садовой, используемые в декоративном садоводстве, получены в результате межвидовых и межсортовых скрещиваний, семенное потомство которых бывает гетерозиготным в первом поколении с расщеплением признаков в последующих [7].

Никитский ботанический сад – Национальный научный центр НААН Украины (НБС–ННЦ) является одним из ведущих учреждений, занимающихся интродукцией и селекцией канны садовой. Ценность генофонда Никитского ботанического сада определяется не только количеством образцов, полученных из-за рубежа, но и гибридным материалом, созданным сотрудниками [7]. Коллекция канны садовой в настоящее время представлена 6 природными видами, 26 сортами селекции НБС–ННЦ и 23 сортами зарубежной селекции.

Результаты исследований последних лет показали, что успешное размножение канны разных видов возможно с применением методов культуры органов и тканей, что позволяет получать генетически однородный посадочный материал в большем количестве и в более сжатые сроки по сравнению с использованием традиционных методов размножения. Так, учеными зарубежных стран разрабатываются и совершенствуются биотехнологические способы размножения *Canna indica* L. и *Canna × generalis* [9, 10, 13]. В настоящее время в НБС–ННЦ ведутся исследования по выявлению патогенной микрофлоры сортов канны садовой *C. hybrida* для оздоровления методами биотехнологии и размножению растений в условиях *in vitro*.

Целью нашей работы было получение асептической культуры первичных эксплантов и выявление морфогенетического потенциала органов и тканей ценных сортов канны садовой на начальных этапах их культивирования в условиях *in vitro*.

Объекты и методы исследования

Объектами настоящего исследования служили перспективные сорта канны садовой из коллекционных насаждений Никитского ботанического сада: 2 сорта селекции НБС–ННЦ (Дар Востока, Ливадия) и 2 сорта зарубежной селекции (Президент, Суевия).

Исследования проводили в лаборатории биохимии, биотехнологии и вирусологии растений НБС–ННЦ. В работе использовали методы культуры органов и тканей, общепринятые [1] и разработанные в отделе биотехнологии растений НБС–ННЦ [5, 6].

В качестве исходных эксплантов были взяты сегменты корневища канны садовой, отбор которых проводили с августа по ноябрь. Для введения в культуру *in vitro* были выделены вегетативные почки. Растительный материал стерилизовали в несколько этапов: промывали в мыльном растворе и ополаскивали проточной водопроводной водой. Затем экспланты помещали в лабораторные стаканы для

последующей стерилизации. Ступенчатую стерилизацию эксплантов проводили в 3 этапа: обрабатывали раствором 70% этанола с экспозицией 1 мин., раствором 3%-ного гипохлорита натрия (Domestos, Венгрия) в течение 17 мин. и затем пятикратно промывали стерильной дистиллированной водой.

Экспланты, прошедшие стерилизацию, в асептических условиях вводили в пробирки на агаризованные питательные среды Murashige, Skoog (MS) [12] и Lloyd, McCown (WPM) [11], модифицированные для разных этапов морфогенеза. Затем пробирки с эксплантами помещали в культуральную комнату при температуре $24 \pm 1^\circ\text{C}$, с 16-часовым фотопериодом и интенсивностью освещения 2000-3000 лк.

Обработку результатов экспериментов проводили при помощи методов статистического анализа [3].

Результаты и обсуждение

Как известно, среди факторов, оказывающих влияние на регенерацию микропобегов на начальном этапе культивирования, важную роль играет генотип и срок отбора растительного материала для введения в асептические условия культивирования [1, 4]. У жизнеспособных эксплантов на 25-е сут. культивирования наблюдали удлинение микропобегов (табл. 1) и появление листьев. Так, в ноябре у сорта канны садовой Ливадия отмечали образование 2 развернутых листьев и увеличение длины эксплантов на 0,75 см. Однако, в более ранние сроки введения (сентябрь, октябрь) на 25-е сут. культивирования сформировался 1 развитый лист и в 3 раза снижалась интенсивность роста микропобегов. При этом, на 30-е сут. культивирования края образовавшихся листьев начинали темнеть и деформироваться, что способствовало в дальнейшем отмиранию всего листа.

Экспланты сорта канны Президент развивались более активно в ноябре, а в остальные сроки введения (август-октябрь) наблюдали постепенное потемнение тканей. Увеличение длины микропобега в этот период составило 0,93 см. У жизнеспособных эксплантов сорта канны Дар Востока на 25-е сут. культивирования в условиях *in vitro* удлинения микропобегов не происходило.

Таблица 1

Влияние сроков введения эксплантов канны садовой в условия *in vitro* на удлинение микропобегов на 25 сут. культивирования

Сорт	август		сентябрь		октябрь		ноябрь	
	исходная длина, см	увеличение длины, см *	исходная длина, см	увеличение длины, см	исходная длина, см	увеличение длины, см *	исходная длина, см	увеличение длины, см
Дар Востока	0,8-1,6	–	0,8-1,8	0	1,0-2,1	–	1,0-2,3	0
Ливадия		–		$0,25 \pm 0,09$		$0,23 \pm 0,06$		$0,75 \pm 0,15$
Президент		0		0		–		$0,9 \pm 0,14$
Суевия		$0,73 \pm 0,17$		$0,45 \pm 0,14$		$0,6 \pm 0,24$		$1,15 \pm 0,27$

Примечение: * – жизнеспособные микропобеги отсутствовали

У сорта канны Суевия при разных сроках введения в условия *in vitro* (август-ноябрь) на 25-е сут. культивирования разворачивалось 2-3 листа. При этом лучшее развитие микропобегов наблюдали в ноябре (1,15 см). Так, экспланты этого сорта

начинали удлиняться на 10-е сутки культивирования, на 35 сут. – длина вегетативных почек увеличивалась на 3 см (рис. 1).

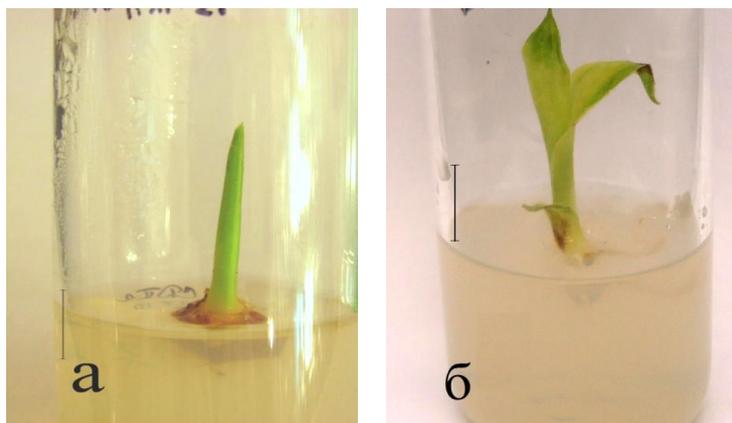


Рис. 1. Экспланты сорта Суевия: а – на 10-е сутки культивирования; б – на 35-е сутки культивирования

Как показали наши исследования, появление дополнительных побегов у отдельных эксплантов сорта Суевия (рис. 2 а) отмечено на 65-е сут. культивирования. Вместе с тем, спонтанное образование корней у некоторых микропобегов (рис. 2 б) наблюдали на 37-е сут. культивирования.



Рис. 2. Экспланты сорта Суевия: а – образование адвентивного побега; б – спонтанное образование корней

Микропобеги канны сорта Суевия, сохранившие жизнеспособность на 94-е сут. культивирования, формировали 1,25 адвентивных побегов на эксплант (табл. 2). Спустя 125 сут. количество образовавшихся дополнительных побегов на эксплант в культуре *in vitro* увеличилось до 1,6 шт.

Таблица 2

**Изменение морфологических признаков эксплантов сорта
Суевия при культивировании *in vitro***

Срок культивирования эксплантов	Адвентивные побеги		Спонтанные корни	
	среднее количество образовавшихся на эксплант, шт.	средняя длина, см	среднее количество образовавшихся на эксплант, шт.	средняя длина, см
на 94-е сутки	1,25±0,28	1,1±0,22	1,1±0,31	1,17±0,17
на 125-е сутки	1,6±0,27	2,01±0,38	2,0±0,39	2,35±0,24
на 137-е сутки	1,6±0,27	3,08±0,6	2,8±0,65	3,3±0,36
на 145-е сутки	1,6±0,27	3,2±0,64	3,3±0,67	3,7±0,45

Вместе с тем при этих сроках культивирования размер адвентивных микропобегов достигал от 1,1 до 2,01 см. При последующем культивировании регенерантов канны их средняя длина на 145 сут. увеличилась до 3,2 см.

Наряду с этим средняя длина корней регенерантов на 94-е сут культивирования в асептических условиях составила 1,17 см. На 145 сутки культивирования в условиях *in vitro* их длина достигла 3,7 см.

Выводы

1. Получена асептическая культура первичных эксплантов четырех сортов канны садовой (Дар Востока, Ливадия, Суевия и Президент).

2. Определен оптимальный период введения в условия *in vitro* (ноябрь) трех сортов канны садовой (Ливадия, Суевия и Президент).

3. Установлено, что жизнеспособность и регенерационный потенциал микропобегов канны зависит от генотипа, периода введения эксплантов *in vitro* и условий их культивирования. Показано, что наиболее высоким морфогенетическим потенциалом обладал сорт канны Суевия.

Список литературы

1. Бутенко Р.Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений. – М.: Наука, 1964. – 272 с.

2. Дашкеев Е.А. Канны в Молдавии. – Кишинев: Штиинца, 1975. – 65 с.

3. Лакин Г.Ф. Биометрия: Учеб. пособие для биол. спец. вузов. – М.: Высш. шк., 1990. – 352 с.

4. Митрофанова И. В. Микрклональное размножение субтропических и тропических плодовых культур (обзор литературы) // Тр. Никит. ботан. сада. – 1997. – Т. 119. – С. 63-95

5. Митрофанова И. В. Соматический эмбриогенез и органогенез как основа биотехнологии получения и сохранения многолетних садовых культур – К.: Аграрна наука, 2011. – 344 с.

6. Митрофанова О.В., Михайлов А.П., Чехов А.В. Биотехнологические аспекты освобождения от вирусов и клонального микроразмножения некоторых экономически важных многолетних культур // Тр. Никит. ботан. сада. – 1997. – Т. 119. – С. 5-12.

7. Феофилова Г.Ф. Ассортимент и технология выращивания перспективных сортов канны для южных районов страны // Сб. научн. тр. ГНБС. – Ялта, 1991. – Т.112. – С. 41-50.

8. Determination of viral infections in an austrian collection of *Canna indica* / Borroto-Fernandez E.G., Maghuly F., Fellner A., Laimer M. // J. of Plant Diseases and Protection. – 2008. – № 115 (3). – P. 102-103.

9. Kromer K. Biological activity of endogenous and influence of exogenous growth regulators on *Canna indica* regeneration *in vitro* // Acta Hort. – 1979. – № 91. – P. 295-300.
10. Kromer K., Kukulczanka K. *In vitro* cultures of meristem tips of *Canna indica* // Acta Hort. – 1985. – № 167. – P. 279-286.
11. Lloyd G., McCown B. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture // Proc. Int. Plant Prop. Soc. – 1980. – Vol. 30. – P. 420-427.
12. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiol. Plant. – 1962. – Vol. 15, № 3. – P. 473-497.
13. Research on shoot-tip culture of *Canna* × *generalis* / Wang D., Lei J., Wu Y., Lü H, Yu J. // Subtropical Plant Science. – 2008. – Vol. 1. – P. 9.

Рекомендовано к печати д.б.н., проф. Митрофановой О.В.