

## ОСОБЕННОСТИ МОРФОГЕНЕЗА В КУЛЬТУРЕ ОРГАНОВ И ТКАНЕЙ АБРИКОСА (*PRUNUS ARMENIACA* L.)

Н.П. ЛЕСНИКОВА-СЕДОШЕНКО,  
О.В. МИТРОФАНОВА, доктор биологических наук

Никитский ботанический сад – Национальный научный центр

В связи с возрастающей потребностью в сортах растений с широким спектром созревания плодов, высокой продуктивностью и другими хозяйственно-ценными признаками в Никитском ботаническом саду проводятся исследования по селекции косточковых плодовых культур в условиях *in situ* и *in vitro*. При этом большое внимание уделяется созданию селекционных форм с ранним сроком созревания плодов и устойчивых к вирусным болезням. Однако получению таких форм часто препятствует несовместимость исходных генотипов при гибридизации, что в большинстве случаев приводит к формированию неполноценных семян. В связи с этим перспективным направлением в ускорении селекционного процесса и получении генетического разнообразия является применение биотехнологических методов [4, 5].

Целью настоящего исследования было изучение особенностей морфогенеза культуры органов и тканей абрикоса для получения и размножения новых селекционных форм в условиях *in vitro*.

### Материалы и методы исследований

Объектами исследования служили зрелые и незрелые зародыши, а также сегменты ювенильных проростков абрикоса (*Prunus armeniaca* L.) сортов Дионис, Салют и Эффект из коллекционных насаждений Никитского ботанического сада.

В экспериментах применяли методы культуры органов и тканей. Все опыты осуществляли с соблюдением условий асептики [1, 3, 4]. Стерилизацию косточек абрикоса проводили путем погружения на 1-2 секунды в 90-95%-ный этанол и последующего обжига в пламени спиртовки. Зародыши извлекали путем раскрытия косточек с помощью специально сконструированного прибора для разрушения каменистых околоплодников [3]. Семенные покровы удаляли в стерильных условиях, а затем зародыши помещали в культуральные сосуды. При изучении морфогенетических потенциалов абрикоса в условиях *in vitro* использовали модифицированные нами питательные среды Монье [7] (M1, M2), Мурасиге и Скуга [8] (MC1, MC2), B5 [6], QL [9]. Для инициации развития эксплантов и получения множественных адвентивных побегов в питательные среды вводили фитогормоны цитокининового (БАП, кинетин) и ауксинового (НУК, ИМК) типов действия, добавляя гибберелловую кислоту (ГК), L-глутамин, глицин, гидролизат казеина.

Первоначально культуральные сосуды с зародышами помещали в холодильную камеру с пониженными положительными температурами ( $4\pm 1^\circ\text{C}$ ) и отсутствием освещения. Через 2-3 месяца их выставляли в культуральную комнату с освещенностью 2-3 клк, среднесуточной температурой  $25\pm 1^\circ\text{C}$ , фотопериодом 16 часов и относительной влажностью воздуха 70-80%.

Полученный в условиях *in vitro* растительный материал оценивали по качественным и количественным показателям [2].

### Результаты и обсуждение

При культивировании зародышей абрикоса на средах Монье и MC, содержащих кинетин в концентрации 0,93-4,60 мкМ, ГК – 0,29-2,89 мкМ, L-глутамин – 34,22-68,44 мкМ, гидролизат казеина – 0,4%, наблюдали различные пути реализации морфогенетического потенциала. Зародыши абрикоса, помещенные на питательную среду Монье в нашей модификации, более активно прорастали и формировали полноценные проростки. При этом выявлена зависимость их развития и роста от размера первичного экспланта и генотипа. Так при культивировании зиготических зародышей длиной до 0,3 см наблюдали образование единичных проростков, однако полноценных растений получено не было. Лучшее развитие

проростков отмечено из зародышей размером 0,8-2,0 см. У сортов абрикоса Дионис, Салют и Эффект полноценные проростки развивались спустя 2-2,5 месяца культивирования на питательной среде М1 (модификация среды Монье). При этом в пределах изучаемых сортов количество проростков различалось и составило: для сорта Дионис – 92,4%; сорта Салют – 64,1% и сорта Эффект – 72,2% (рис. 1).

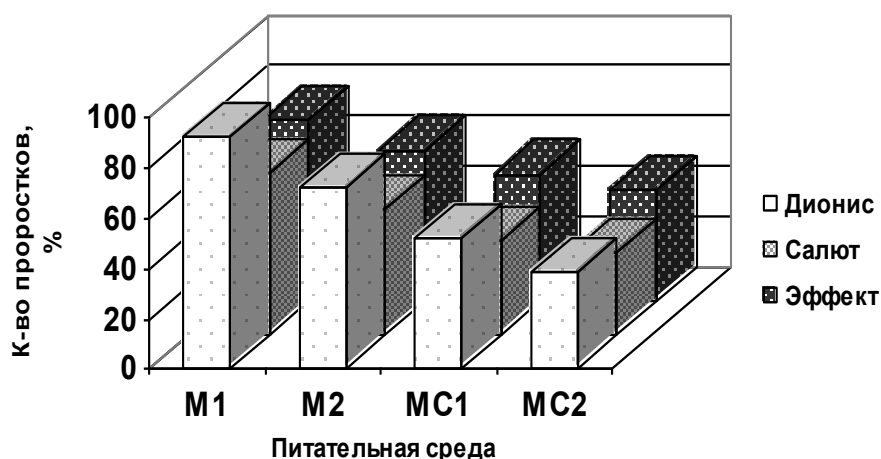


Рис. 1. Развитие проростков из зародышей абрикоса через 2,5 месяца культивирования на питательных средах: М1 – среда Монье + 0,93 мкМ кинетина + 0,027 мкМ НУК + 0,29 мкМ ГК; М2 - среда Монье + 1,86 мкМ кинетина + 0,054 мкМ НУК + 0,29 мкМ ГК; МС1 - среда МС + 0,93 мкМ кинетина + 0,027 мкМ НУК + 0,29 мкМ ГК; МС2 – среда МС + 1,86 мкМ кинетина + 0,054 мкМ НУК + 0,29 мкМ ГК

В ряде случаев (30-52%) при развитии зародышей сортов Салют и Эффект было отмечено формирование слабо развитых проростков (с отмирающей апикальной частью и неразвившейся корневой системой). Для сохранения и восстановления таких проростков нами разработан способ микрочеренкования. Для регенерации множественных почек и побегов неполноценные проростки микрочеренковали, и сегменты с 2-3-мя междоузлиями помещали на питательные среды В5 и QL, содержащие различные сочетания и концентрации БАП, НУК и ИМК. Через 5-6 недель на питательной среде В5, дополненной БАП в концентрации 0,44-22,20 мкМ, отмечали формирование почек и развитие микропобегов. Однако дальнейшее субкультивирование не способствовало регенерации множественных побегов. Данные, приведенные в таблице, показывают, что активная регенерация микропобегов происходит на питательной среде QL, содержащей 0,44-3,33 мкМ БАП и 0,054 мкМ НУК.

### Влияние различных концентраций БАП и НУК на регенерацию микропобегов сортов абрикоса

Питательная среда	Количество образовавшихся микропобегов, шт./эксплант		
	Дионис	Салют	Эффект
В5 (0,44 мкМ БАП+0,049 мкМ ИМК)	1,7±0,8	1,6±0,8	1,7±0,1
В5 (2,22 мкМ БАП+0,049 мкМ ИМК)	5,4±0,7	4,1±0,7	3,1±0,2
В5 (3,33 мкМ БАП+0,049 мкМ ИМК)	4,2±0,6	3,1±0,4	2,1±0,4
QL (0,44 мкМ БАП+0,054 мкМ НУК)	3,8±0,5	1,8±0,5	2,7±0,4
QL (2,22 мкМ БАП+0,054 мкМ НУК)	10,2±0,9	7,2±0,6	8,0±0,6
QL (3,33 мкМ БАП+0,054 мкМ НУК)	7,4±0,7	6,3±0,4	6,1±0,7

С увеличением концентрации БАП и НУК регенерационная способность снижалась и составила у сортов Дионис, Салют и Эффект: на питательной среде В5 – 4,2±0,6 шт./эксплант, 3,1±0,4 шт./эксплант, 2,1±0,4 шт./эксплант, на питательной среде QL – 7,4±0,7 шт./эксплант,

6,3±0,4 шт./эксплант, 6,1±0,7 шт./эксплант соответственно. Спустя 4-6 недель на модифицированной питательной среде QL микропобеги достигали длины 1,5-2,5 см (рис. 2).

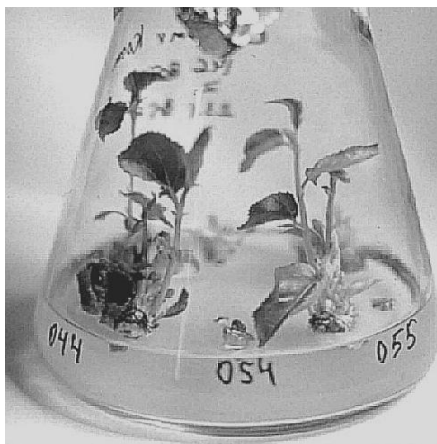


Рис. 2. Образование адвентивных микропобегов абрикоса на модифицированной питательной среде QL



Рис. 3. Формирование эмбрионного каллуса на семядолях абрикоса сорта Дионис

Исследуя особенности морфогенеза при культивировании семядолей незрелых зиготических зародышей на питательных средах М1, М2, МС1 и МС2 в ряде случаев отмечали формирование светло-зеленого эмбрионного каллуса на поверхности семядолей абрикоса сорта Дионис (рис. 3). При этом количество соматических зародышей составило 12-15 шт./эксплант, однако дальнейшего развития эмбриоидов не происходило. Для получения полноценных регенерантов после этапа собственно микроразмножения микропобеги помещали на среды с веществом ауксинового типа действия. Активное образование корней в основании микропобегов отмечали на питательной среде, содержащей ½ состава макро- и микросолей по прописи МС, дополненной 0,049-1,23 мкМ ИМК. Лучшим субстратом для адаптации *in vivo* проростков и регенерантов была смесь почвы, песка и торфа в объемном соотношении 2:1:1 соответственно.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о высоких морфогенетических потенциях зародышей абрикоса, которые в зависимости от их размера, генотипа и условий культивирования могут образовывать проростки, каллус или соматические зародыши.

#### Список литературы

1. Бутенко Р.Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений. – М.: Наука, 1964. – 270 с.
2. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. – М.: Агропромиздат, 1985. – 351 с.
3. Здруйковская-Рихтер А.И. Культура изолированных зародышей и некоторые другие приемы выращивания растений *in vitro*. – М.: ВАСХНИЛ. – 1974. – 60 с.
4. Митрофанова О.В., Митрофанова И.В., Смыков А.В., Лесникова Н.П. Методы биотехнологии в селекции и размножении субтропических и косточковых плодовых культур // Труды Никит. ботан. сада. – 1999. – Т. 118. – С. 189-199.
5. Основы сельскохозяйственной биотехнологии / Муромцев Г.С., Бутенко Р.Г., Тихоненко Т.И., Прокофьев М.И. – М.: Агропромиздат, 1990. – 384 с.
6. Gamborg O.L., Eveleigh D.E. Culture methods and detection of glucanases in cultures of wheat and barley // Can. J. Biochem. – 1968. – V. 46, N 5. – P. 417-421.
7. Monnier M. Croissance et developpement des embryons globulaires de *Capsella Bursa-pastoris* cultives *in vitro* dans un milieu a la base d'une nouvelle solution mineral // Bull. Soc. Bot. France, Memoires, Coll. Morphologie. – 1973. – P. 179-194.
8. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue

cultures // *Physiol. Plant.* – 1962. – V. 15, N 3. – P. 473-497.

9. Quoirin M., Lepoivre P. Etude de milieux adaptes aux cultures in vitro de *Prunus* // *Acta Hort.* – 1977. – V. 78. – P. 437-442.

**Features of morphogenesis in tissue and organs culture of *Prunus armeniaca* L.**

Lesnikova-Sedoshenko N.P., Mitrofanova O.V.

Morphogenetic potentials of organs and tissue in *Prunus armeniaca* L. have been studied. The optimum concentrations of phytohormones in Monnier (1973) and Quoirin, Lepoivre (1977) culture mediums for microshoots regeneration and apricot plants obtaining have been established.