

УДК 635:63:631:572(123)

МИКРОКЛОНАЛЬНОЕ РАЗМНОЖЕНИЕ И АДАПТАЦИЯ РЕГЕНЕРАНТОВ ГИБРИДА ОГУРЦА КАТРИН F1

*Киселева И.А., Евсюкова А.Д., студенты 3 курса
института ветеринарии, ветеринарно-санитарной
экспертизы и агробезопасности
Научный руководитель – Нитяга И.М., кандидат
биологических наук, доцент
ФГБОУ ВО «МГУПП»*

Ключевые слова: *Микроклональное размножение, регенеранты, адаптация, культура in vitro.*

Работа посвящена микроклональному размножению растений и их дальнейшей адаптации в условиях среды ex vitro. В результате опытов установлено, что для адаптации важен механический состав и чистота почвы, а также регуляция транспирации.

Одним из наиболее важных условий культуры in vitro является обеспечение стерильных условий. Растение имеет определенную естественную защиту от болезнетворных микроорганизмов и абиотической среды, в которой оно произрастает. Клеткам и тканям не хватает такой защиты после извлечения их из родительского растения. В культуре тканей, как и в культуре клеток, растительный материал выращивается на искусственной среде, в которой созданы все необходимые условия для роста. Температуру поддерживают на уровне порядка 25 °С (несколько ниже на ночь: 23 или 24 °С). Фотопериод составляет, как правило, 16 часов, и поддерживается при помощи холодных белых флуоресцентных ламп, с интенсивностью около 3000-5000 люкс. Компоненты питательной среды для культуры ткани могут быть разделены на четыре основные группы: механическая составляющая, минеральные элементы, органические соединения и регуляторы роста.

1. Механическая составляющая.

В культуре In vitro в зависимости от объекта и цели исследования используется как жидкая, так и твердая питательная среда. В жидкой культуральной среде, ткани или клетки культивируются в воде, содержащей питательные вещества и другие необходимые для роста и развития составляющие.

2. Питательные вещества.

Основными компонентами питательных сред для культуры тканей являются органические и неорганические соли, аминокислоты, сахара и витамины.

Для различных целей было разработано множество разнообразных базовых сред. К ним относятся MS, по именам разработчиков, Мурасиге и Скуга (Murashige and Skoog), Гамбург (Gamborg), и среда Уайта (White). Ауксины (например, нафталин уксусная кислота, индол-3-бутановой кислоты и 2,4-dichlorophenoxyacetic кислота (2,4-D)) используются, чтобы ускорить корнеобразование. Цитокинины (например, кинетин, бензиламинопурин) используются, чтобы ускорить побегообразование.

Суть микро-размножения можно свести в пять основных шагов:

1. Селекция экспланта. Фрагменты растения (например, меристемы, лист, стебель ткань, почки), используемые в культуре ткани, называются эксплантами. Материал должен быть в хорошем физиологическом состоянии, а также чистым от инфекций и возбудителей.

2. Введение в культуру и создание стерильной культуры. Перед посадкой на питательную среду эксплант подвергается поверхностной стерилизации.

3. Побегообразование. Образование пазушных побегов индуцируется путем добавления цитокининов к культуральной среде. Применение цитокинина и ауксина в соотношении примерно 50:1 позволяет получать побеги без лишнего каллусообразования.

4. Корнеобразование. Добавление ауксина в среду вызывает образование корней. Необходимо добиться образования корней на побегах, так как впоследствии эти побеги нужно будет перенести в почву для дальнейшего развития.

5. Перенос в естественную среду. Перед переносом саженцев в грунт необходимо обеспечить постепенный переход от идеальных лабораторных условий в более жёсткие, естественные условия выращивания. Это достигается за счет снижения относительной влажности и увеличением интенсивности света, процесс называется адаптацией, или закалкой.

Ход работы. В данном исследовании используется огурец Катрин F1, так как применяя семена одного и того же гибрида во всех вариантах опыта, мы обеспечиваем достоверность результатов, за счёт генетической выровненности растений.

Семена высаживаются на питательную среду, предварительно проводится стерилизации этанолом, гипохлоритом и tween 20, а затем

Таблица 1 - Варианты адаптации с результатами

Вид почвы	Земля		Торф		Торф и перлит	
	Без крышки	С крышкой	Без крышки	С крышкой	Без крышки	С крышкой
Изоляция от внешней среды						
Количество образцов	2	2	2	2	2	2
Время жизни	2 дня	3 недели	2 дня	Жив до сих пор	1 день	Жив до сих пор
Наблюдаемый результат	Засыхание листьев через 1,5 часов после пересадки	Поражение бактериями из почвы	Засыхание листьев через 1,5 часов после пересадки	Жизнеспособен, без видимых дефектов	Засыхание листьев через 1,5 часов после пересадки	Жизнеспособен, без видимых дефектов

промывка их дистиллированной водой. В каждый контейнер высевается по 6 семян, всего используется контейнеров 5. Количество семян было взято заведомо большее, чем требовалось для опыта так как часть материала могла оказаться заражённой из-за недостаточной стерилизации, или попадания инфекции на питательную среду. В итоге один из контейнеров был заражён плесневым грибом, и растения для адаптации из него не использовались.

Рассматриваются два наиболее важных условия в окружающей среде, которые наиболее сильно влияют на развитие растения: почва и транспирация. Дальше после достаточного развития растений проводят их укоренение.

Адаптация прошла успешно только у тех растений, у которых была проведена адаптация их листьев к уменьшенной транспирации и адаптация их корней к более твёрдому грунту, чем гель питательной среды, но в то же время более стерильному, чем обычная земля. Все остальные образцы не смогли адаптироваться.

Заключение. Таким образом, можно сделать вывод о том, что наиболее удачным методом адаптации является тот, который сочетает в себе наиболее оптимальное сочетание таких условий, как регуляция транспирации регенерантов а также механический состав и чистота почвы. Чистота почвы в данном случае – это отсутствие в ней бактерий, вирусов и других возбудителей болезней растений.

Библиографический список:

1. Asexual embryogenesis and plantlet development in anther culture of *Cucumis sativus* L./ Lazarte J.E. and Sasser C.C.// Hortscience, 17. 1982. P. 88.
2. Embryogenesis and plant regeneration from anther cultures of *Cucumis sativus*/ Ashok Kumar H.G., Murthy H.N. and Paek K.Y.//Scientia Horticulture 98, (3). 2003. P. 213-222.
3. Haploid production in cucumber/ Hui Song, Qun-Feng Lou et al.// Plant.Cell Tiss. Organ.Cult., 90. 2007. P. 245-254.
4. Огурец / Лебедева А.Т.//А.Т. Лебедева. - М. Росагропромиздат, 1988. - 46 с.
5. Огурец, кабачок, патиссон, бахчевые и другие тыквенные овощи. / Мухин В.Д. // «Никола-пресс», 2007
6. «Огурец: от посева до урожая» / Портянкин А.Е., Шамшина А.В.// Под общей редакцией доктора с/х наук, профессора С.Ф. Гавриша. – М.: ООО «Гибридные семена «Гавриш» для НП «НИИОЗГ», ЗАО «Фитон+», 2010. – 400с.:ил

MICROCLONAL REPRODUCTION AND ADAPTATION OF CUCUMBER HYBRID REGENERANTS OF KATRIN F1

Kiseleva I.A., Evsyukova A.D.

Key words: *Microclonal reproduction, regenerants, adaptation, in vitro culture.*

The study devoted to microclonal propagation of plants and their next adaptation in ex vitro environment. As a result was established that for adaptation the mechanical composition and purity of the soil, as well as the regulation of transpiration, are important.