

## РАЗМНОЖЕНИЕ АКТИНИДИИ В КУЛЬТУРЕ IN VITRO ПУТЕМ РЕГЕНЕРАЦИИ

Зарнадзе Н.Ж. Ломтатидзе Н.Д.

*Грузия, г. Батуми, Государственный университет им. Ш.Руставели*

Для изучения регенерационной способности растений в качестве эксплантатов использовали участки разных листьев пробирочных культур: Установлено, что диплоидный вид *Actinidia chinensis* характеризуется более высокой регенерационной способностью по сравнению с гексаплоидным видом *Actinidia deliciosa*.

Биотехнологические методы ускоренного размножения уникальных генотипов и создания генетически разнообразного материала для селекции могут иметь широкий выход в практику лишь в тех случаях, когда обеспечивается стабильное получение массовых количеств регенерантов путем органогенеза. Трудность представляет подбор гормонов и их концентраций для индукции регенерации растений. Однако надо отметить на сегодняшний день для древесных растений подбор фитогормонов не является проблемной, об этом твердит многочисленные работы по культуре тканей. [2, 3, 4].

Целью нашей работы было отработать условия индукции органогенеза и получить растения регенеранты двух видов актинидии: *Actinidia deliciosa* и *Actinidia chinensis*.

Для изучения регенерационной способности растений в качестве эксплантатов использовали участки разных листьев пробирочных культур: молодых, средних по возрасту и зрелых. Листья срезали с побегов, с нижней стороны делали вдоль жилки надрезы и помещали на питательную среду Гамборга В<sub>5</sub>, с добавлением, в зависимости от вариантов опыта, разных количеств БАП (3-15μм) и НУК (1,3μм).

Пассирование на свежую среду проводили через каждые 20 дней. Изучение каждого варианта опыта вели в течение около 8-10 недель (3-4 пассажа). Культивировали листовые эксплантаты при двух режимах: 1) в течение 12 дней в темноте, в термостате при температуре  $27 \pm 1^\circ \text{C}$  с последующим переносом на свет (освещенность 2-3 клюкс, фотопериод 16/8 часов, температура  $25 \pm 1^\circ \text{C}$ ), 2). эксперимент полностью проводился на свету при указанном выше световом и температурном режиме.

Морфогенетические потенции зрелых листьев были низкими. Большинство эксплантатов (из них около 85%) каллус не образовывали, слегка увеличиваясь в объеме к концу 0-пассажа приобретали бледную желтовато-зеленую окраску и в первом же пассаже погибали. Другие из этого типа эксплантатов (15-20%) образовывали каллус вдоль жилки при наличии в среде НУК в концентрации 3μм. Прирост биомассы у них по визуальной оценке был медленным, но синхронным. В последующих пассажах каллус формировал почки, частота возникновения которых была

значительно ниже, чем при использовании средних по возрасту листьев.

На эксплантатах листьев среднего возраста через 5-10 дней после их изоляции отмечали каллусообразование, которое начиналось с центральной части эксплантата, постепенно охватывая его периферию. Через 20-25 дней наблюдали дифференциацию морфогенных узлов, а через 30-35 дней от 0-пассажа регенерацию первичных листьев, почек и побегов. В дальнейшем в течение четырех пассажей интенсивность органогенеза возрастала, к концу 4-ого пассажа процесс дифференциации становился стабильным, а к 5-ому пассажиру заметно уменьшался.

Выращивание эксплантатов в разных условиях освещения показало различный эффект: каллусогенез происходил в обоих режимах, но темнота стимулировала и ускоряла его индукцию. Морфогенетические потенциалы эксплантатов, предварительно инкубированных в темноте, были более высокие, чем культивируемых непосредственно на свету, следовательно, темновой период выращивания в течение 12 дней благоприятно и эффективно влиял на дифференциацию клеток и дальнейшее заложение морфогенных узлов.

Инициация каллусной ткани у диплоидного вида *A.chinensis* наблюдалась на 4-5 дней раньше, чем гексоплоидного *A.deliciosa*. Во всех вариантах диплоидный вид продуцировал большее число каллусов и соответственно у него установлен более высокий процент регенерации почек и побегов, чем у гексоплоидного. Индукция каллуса более интенсивно происходила на средах с 3м НУК, при увеличении ее концентрации процесс усиливался, но формирование каллусов, характеризующихся повышенным регенерационным потенциалом отмечалось на средах с более низким содержанием НУК (сре-

ды С<sub>1</sub>-С<sub>5</sub>). Как видно из таблицы *A.deliciosa* и *A.chinensis* проявляли также разный уровень морфогенетического потенциала, который к тому же зависел от гормонального состава среды. Эксплантаты *A. deliciosa* на самые низкие концентрации БАП не отвечали образованием меристематических узлов и примордиальных почек в каллусе, *A. chinensis* свой морфогенетический потенциал проявляла в этих условиях очень слабо. (среды С<sub>1</sub> и С<sub>5</sub>).

Интенсивность стеблевого морфогенеза заметно усиливалось с увеличением концентрации БАП в среде до определенного уровня, при этом оптимальные соотношения концентрации БАП и НУК были разными у изученных видов. Наиболее продуктивными для *A. chinensis* оказались среды С<sub>3</sub> и С<sub>4</sub>, на которых формировались максимальное число регенерантов. Для другого вида *A. deliciosa*, эффективные уровни регуляторов роста были сравнительно высокие. (среды С<sub>4</sub> и С<sub>9</sub>).

Разные оптимальные уровни регуляторов роста для индукции органогенеза у изученных видов, видимо, обусловлены генетически. Известно, что заложение и последующая реализация почек является следствием дифференциальной активности генов. Эта активность регулируется гормональными индукторами [ 1 ]. Компетентность у разных генотипов, в том числе, видимо, и у

актинидии разная, что обусловило различия в оптимальных для регенерации в концентрациях экзогенных регуляторов роста.

Регенерированные почки и стебли срезали с каллуса и доращивали на среде Гамборга Б 5 с добавлением 3 мкМ БАП. Более 60-65% из регенерированных почек развивались, в нормальные побеги. Побеги высотой 20-25 мм. переносили на среду для укоренения, содержащую ИМК в концентрации 4 мкМ. Используемая среда обеспечила 90-100% -ное укоренение побегов особых видов актинидии. Укорененные растения-регенеранты переносили в нестерильные условия. Для пересадки использовали смесь почвы и речного песка в соотношении 1:1. Акклиматизацию проводили в теплице. В течение 5-6 дней поддерживали влажность 100%, которую постепенно снижали и через 8-10 дней растения-регенеранты актинидии могли нормально развиваться в естественных условиях.

Таким образом, нами установлено, что диплоидный вид *Actinidia chinensis* характеризуется более высокой регенерационной способностью по сравнению с гексаплоидным видом *Actinidia deliciosa*. Наблюдали зависимость регенерации от пола растения, возраста исходного эксплантата ( листа ), условий освещения и от гормонального состава питательной среды. Для обоих изученных

видов подобраны условия, обеспечивающие получение каллуса, его пассирование, регенерацию из него почек и побегов, их укоренению, перенос в открытый грунт и их приживание в естественных условиях. Установлено, что гормональный состав среды влияет на морфологию растений-регенерантов, изменяя форму листа. Однако эти изменения в процессе онтогенеза растений-регенерантов исчезали и укорененные растения морфологически не отличались от исходных растений.

#### Л И Т Е Р А Т У Р А:

1. Бутенко Р.Г. Экспериментальный морфогенез и дифференциация в культуре клеток растений. М.Наука 1975 г.
2. Phehn D., Serrano G., Mercado A. Regeneration of whole plants from apical meristems of *Pinus radiata* // Plant Cell, Tissue and organ culture. 2003, 73. N 1.
3. Nanda R.M. In vitro embryogenesis and plant regeneration in *Acacia Arabica* // Plant Cell, Tissue and Organ culture, 2003 V.73. N 3.
4. Branka P. Sibila J. The generation ability in common oak (*Quercus robur* L.) Callus cultures // Acta pharm. 1995. V.45. N 2.