

# ГЕНЕТИКА, ЦИТОЛОГИЯ И РЕПРОДУКТИВНАЯ БИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

УДК 581.143.6

КУЛЬТУРА ЛИСТОВЫХ ЭКСПЛАНТОВ РЯДА ГИБРИДОВ ПЕТУНИИ

Т.А. Алаторцева, В.С. Тырнов

*Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского  
410012, Саратов, Астраханская, 83;  
e-mail: AlatorsevaTA@info.sgu.ru*

Область применения микроразмножения разнообразна. В настоящее время его модификации широко используются для массового воспроизводства различных декоративных, ягодных, овощных культур и редких видов дикорастущих растений. При этом решаются как научные, так и коммерческие вопросы. Это актуально и для размножения петунии *in vitro* (Rao, Handro, Harada, 1972).

Петуния – один из популярнейших видов растений, имеющий множество различных декоративных сортов и гибридов. Однако размножение некоторых из них семенами сопряжено с определенными трудностями. Так, наиболее интересными для ученых и цветоводов являются гибриды  $F_1$ , гетерозисный эффект которых угасает при последующем половом размножении, а также не дающие семян махровые формы, у которых пестики превращены в лепестки (Колесникова, Горбаченков, 2004). В связи с этим нами был проведена серия экспериментов по введению в культуру *in vitro* ряда известных гибридов декоративной петунии (Алаторцева, Тырнов, 2007).

В задачи данного исследования входило:

- 1) определить возможные пути морфогенеза в культуре листовых эксплантов исследуемых генотипов;
- 2) выявить гибридные формы, перспективные для размножения *in vitro*;
- 3) подобрать оптимальный состав питательных сред для получения растений-регенерантов.

### Материал и методы

В качестве объектов исследования использовали фрагменты листьев петунии 5 генотипических форм, включающих следующие сорта и гибриды F<sub>1</sub>.

Из группы петуния многоцветковая (*Petunia multiflora*):

- 1) Бургунди, серия Duo (*P. multiflora double F<sub>1</sub> Duo burgund*);
- 2) Фриллитуния вишнёвая (*P. multiflora Frillitunia F<sub>1</sub> Burgundy*);
- 3) Кружевница, смесь (*P. F<sub>1</sub> × hybrida Fryllitunia mixed*).

Из группы петуния крупноцветковая (*Petunia grandiflora*):

- 1) Голубое вино серия Ultra (*P. grandiflora F<sub>1</sub> Ultra series, blue vein*);
- 2) Дедди Орхид F<sub>1</sub> (*P. F<sub>1</sub> grandiflora*).

Растения-доноры выращивали в полевых условиях. Для культивирования отбирали молодые листья со здоровых растений. Перед посадкой на питательную среду листья обрабатывали 75% этанолом и водным раствором гипохлорита натрия с последующим ополаскиванием стерильной дистиллированной водой.

Из простерилизованных листовых пластинок вырезали фрагменты размером 0,5×0,5 см. Экспланты культивировали в пробирках с 7 мл питательной среды.

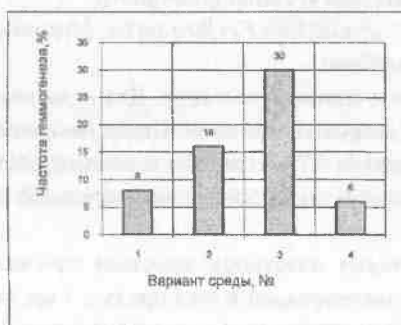
Питательная среда содержала макро- и микроэлементы по Мурасиге и Скугу, а также сахарозу, тиамин, пиридоксин, никотиновую и аскорбиновую кислоты, мезоинозит, агар-агар и различные сочетания ИУК и БАП. Всего испытано 4 варианта: № 1 – ИУК – 0,1 мг/л, БАП – 0,5 мг/л; № 2 – ИУК – 1,0 мг/л, БАП – 2,0 мг/л; № 3 – ИУК – 1,0 мг/л; БАП – 4,0 мг/л; № 4 – ИУК – 2,0 мг/л; БАП – 2,0 мг/л

Для укоренения использовали среды с ИУК (0,5–1,0 мг/л) с уменьшенной вдвое концентрацией макроэлементов, а также безгормональные варианты. Перед автоклавированием рН среды доводили до уровня 5.8–6.1.

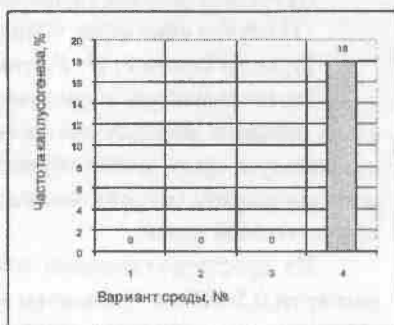
## Результаты и их обсуждение

Наблюдения за эксплантами, взятыми от различных донорных растений, показали, что они реагируют неоднозначно на одни и те же условия выращивания. Наиболее отзывчивыми на условия культивирования оказались экспланты гибридов: Бургунди серия Дуо, Фриллитуния вишнёвая и Кружевница. Все эти донорные растения принадлежат к одной группе многоцветковых петуний с бахромчатыми гофрированными краями, различающихся количеством лепестков и окраской венчика. Однако следует отметить, что тем не менее каждая из форм проявляет индивидуальную реакцию на гормональный состав питательных сред (рис. 1–5).

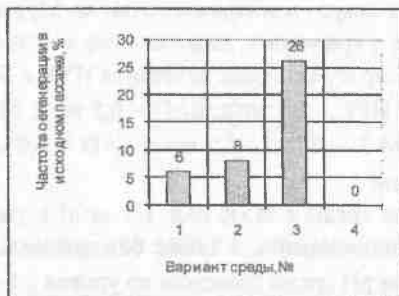
**Бургунди серия Дуо.** Экспланты образовывали почки на всех четырёх средах, при этом минимальная частота геммигенеза (6,0%) и максимальная (30,0%) были отмечены соответственно на средах № 4 и № 3. В то же время среда № 4 оказалась более благоприятной для каллусогенеза, поэтому и проростки в исходном пассаже появлялись на всех средах, кроме варианта № 4 (рис. 1).



а



б



в

Рис. 1. Результаты культивирования листовых эксплантов гибрида Бургунди серия Дуо: а – геммигенез, б – каллусогенез, в – регенерация в исходном пассаже

**Фриллитуния вишнёвая.** Почки непосредственно из клеток листовых фрагментов появлялись лишь на среде № 3 с частотой 4,0%. Каллус формировался на средах № 2, 3, 4 и максимальная частота каллусогенеза отмечена на той же среде № 3 (32,0 %). В исходном пассаже на средах № 2 и № 3 можно было наблюдать появление проростков, то есть для Фриллитунии вишнёвой универсальной для геммигенеза, для каллусогенеза и для регенерации проростков является среда № 3 (рис. 2).

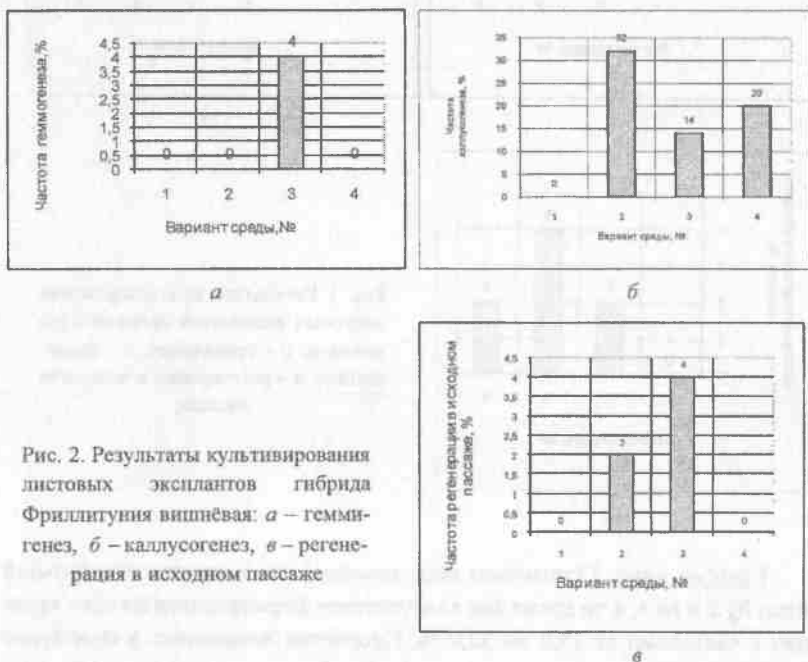


Рис. 2. Результаты культивирования листовых эксплантов гибрида Фриллитуния вишнёвая: *а* – геммигенез, *б* – каллусогенез, *в* – регенерация в исходном пассаже

**Кружевница.** Питательные среды № 2 и № 3 оказывали позитивное влияние на индукцию геммигенеза. Максимальная его частота (16,0%) была зарегистрирована на среде № 3, в то время как варианты № 1 и № 4 стимулировали только каллус. Проростки появлялись в нулевом пассаже на средах № 2, 3, 4 (рис. 3).

Листовые экспланты крупноцветковых доноров оказались менее успешными для культивирования на данных средах.

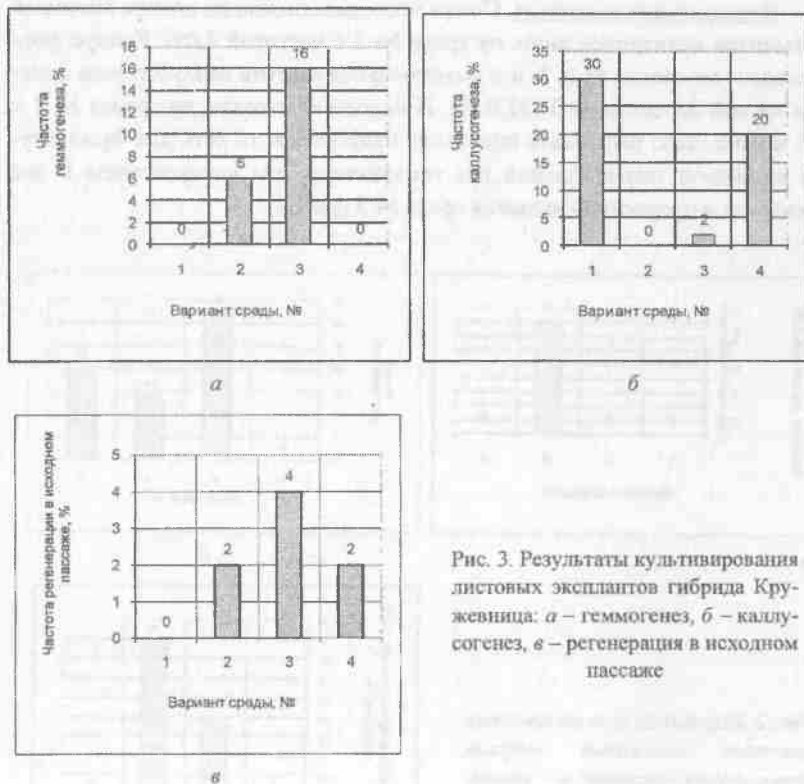
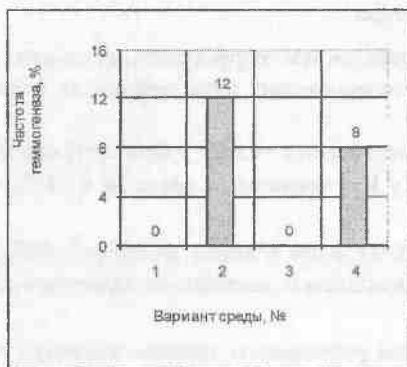


Рис. 3. Результаты культивирования листовых эксплантов гибрида Кружевица: а – геммогенез, б – каллусогенез, в – регенерация в исходном пассаже

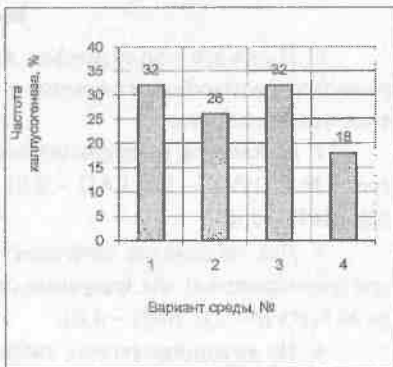
Голубое вино. Геммигенез индуцировали два варианта питательной среды: № 2 и № 4, в то время как каллусогенез формировался на всех вариантах с частотами от 18,0 до 32,0 %. Проростки появлялись в пробирках исходного пассажа только на тех средах, где формировались почки, то есть на средах № 2 и № 4 (рис. 4).

Дедди Орхид. Экспланты этой гибридной формы оказались в данных условиях неспособными формировать растения-регенеранты. Ни на одном из вариантов питательной среды мы не наблюдали прямого геммигенеза. Лишь только на средах № 2 и № 4 появлялся каллус, из которого и впоследствии не удалось получить регенеранты (рис. 5).

Все «нулевые» результаты не следует рассматривать как абсолютно отрицательные. Данные формы могут представлять значительный интерес

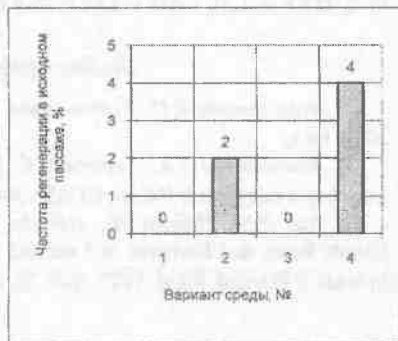


а



б

Рис. 4. Результаты культивирования листовых эксплантов гибрида Голубое вино: *а* – гаммогенез, *б* – каллусогенез, *в* – регенерация в исходном пассаже



в

в научном плане как альтернативный компонент для скрещивания с другими формами при генетическом анализе способности к регенерации, для сравнительной оценки физиолого-биохимических особенностей сортов с разным регенерационным потенциалом и др. Это касается и всех других признаков с «нулевыми» и максимальными значениями.

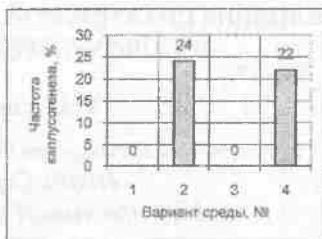


Рис. 5. Результаты культивирования листовых эксплантов гибрида Делди Орхид

## Выводы

1. Наиболее эффективным направлением морфогенеза, ве дущим к развитию растений-регенерантов у исследованных пяти гибридных форм является геммогенез.

2. Из каллуса регенерация осуществляется только у Фриллитунии на среде № 2 (ИУК – 1,0; БАП – 2,0) и у Кружевницы на среде № 4 (ИУК – 2,0; БАП – 2,0).

3. Для эксплантов многоцветковых форм (*Petunia multiflora*) наиболее благоприятной для индукции геммигенеза и регенерации является среда №3 (ИУК – 1,0; БАП – 4,0).

4. Из крупноцветковых гибридов регенеранты удалось получить от эксплантов гибрида Голубое вино на средах, индуцирующих геммогенез: № 2 (ИУК – 1, 0; БАП – 2,0) и № 4 (ИУК – 2,0; БАП – 2,0).

## Библиографический список

Колесникова Е.Г., Горбаченков М.В. Петунья, сурфиния, калибрахоа. М., 2004. 64 с.

Алаторцева Т.А., Тырнов В.С. Морфогенез и микроразмножение гибридных форм петунии // Вестн. СГАУ. 2007. Спец. вып. С. 30–34.

Rao P.S., Handro W., Harada H. Hormonal Control of Differentiation of Shoots Roots and Embryos in Leaf and Stem Cultures of *Petunia inflata* and *Petunia hybrida* // *Physiol. Plant.* 1972. Vol. 28. P. 458–463.

УДК 581.143.6

## ВЛИЯНИЕ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ И ГЕНОТИПА НА МОРФОГЕНЕЗ В КУЛЬТУРЕ ЗРЕЛЫХ ЗАРОДЫШЕЙ КУКУРУЗЫ

**Т.А. Алаторцева, В.С. Тырнов**

*Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского  
410012, Саратов, Астраханская, 83;  
e-mail: AlatorsevaTA@info.sgu.ru; Tyrnovvs@ info.sgu.ru*

Широкое использование метода *in vitro* при размножении злаков, в частности кукурузы, в значительной степени сдерживается такими лимитирующими факторами, как состав питательной среды, генотип донорных растений, тип экспланта. Один из путей решения этой проблемы может