

УДК 582.998.2:581.165.1

СОРТОВАЯ РЕАКЦИЯ ХРИЗАНТЕМ РАЗЛИЧНОГО ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ НА КУЛЬТИВИРОВАНИЕ В АСЕПТИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ

Л. И. ГАВРИКОВА, В. Н. АДРИАНОВ

(Кафедра селекции и семеноводства плодовых и овощных культур)

В условиях *in vitro* эксплантаты, высаживаемые на агаризованную среду, независимо от сорта отличались высокой регенерационной способностью, которая четко проявлялась как в индукции каллуса, так и в пролиферации побегов. У хризантем в стерильной культуре сохранялась совокупность присущих им признаков (высота побега, количество листьев, коэффициент размножения).

Успешное возделывание хризантем во многом зависит от наличия в хозяйстве к строго определенному сроку высококачественного посадочного материала требуемого ассортимента. Решение этой задачи связано с использованием при размножении хризантемы метода культуры тканей и органов.

Работы по культивированию хризантем в стерильных условиях начаты в 60-х годах, однако лишь с 80-х годов они приобрели масштабность и целенаправленность. Исследования данной проблемы ведутся в основном в двух направлениях: получение мутаций, т. е. создание новых сортов [9, 11, 13], и микроклональное размножение. Основное внимание при размножении хризантем культурой ткани уделялось

эксплантатам, выделяемым из различных органов: бутонов [8, 12], сегментов листьев и стеблевых междоузлий [2, 12], верхушечных и пазушных почек [4, 6].

При культивировании различных органов хризантем в асептических условиях происходит либо регенерация микропобегов, либо индукция каллуса с дальнейшей регенерацией микропобегов [4, 6, 7 и др.]. Физиологическая регенерация, т. е. образование каллуса [8], по нашему мнению, для получения посадочного материала хризантем неприемлема. Из литературных данных известно [2, 3], что каллусная ткань гетерогенна (так были получены, например, растения риса и табака с новыми свойствами). Более того, хризантемы, будучи химерными

растениями, даже при обычном вегетативном размножении дают до 10 % растений с новыми признаками [1, 2]. Следовательно, чтобы избежать этого нежелательного для производства явления, необходимо подбирать условия, при которых непосредственно происходил бы нормальный органогенез.

Успех размножения декоративных растений методом культуры ткани зависит от сорта. Это прежде всего относится к гербере и гвоздике [10]. Сортная реакция на культивирование в асептических условиях характерна и для хризантемы [6], хотя исследовалось всего 2—3 сорта.

Целью настоящей работы было изучение сортовой реакции хризантем различного генетического происхождения на культивирование в условиях *in vitro*.

Методика

Исследования проводили в лаборатории культуры тканей и органов Республиканской научно-исследовательской плодопитомниководческой станции (РНИПС). Исходный материал выращивали в условиях защищенного грунта в лаборатории цветоводства Тимирязевской академии.

В опыте испытывали крупноцветковые сорта — Брайтнер раннего срока цветения, Вестланд, Полисаде, Хоекс Бронсе — среднего и Спайдер, Стерлинг, Мей Шусмит — позднего срока цветения; среднецветковый сорт Ля Роз и мелкоцветковые сорта — Уайт Боукет, Липстик раннего срока цветения, Таффета, Снеппер — среднего и Делайт — позднего срока цветения. Объектом изучения служили апексы растений, которые были выделены из верхушечных и боковых побегов в III декаде февраля. При этом побеги размером 3—5 см очи-

щали от верхних листьев и промывали проточной водой в течение 1—1,5 ч. Затем в специальной комнате (операционной) их стерилизовали в 0,1 % растворе сулемы в течение 5 мин и трижды промывали стерильной дистиллированной водой, выдерживая в каждой порции по 5 мин.

Из подготовленного таким образом материала выделяли эксплантаты размером 0,3—0,5 мм и по одному помещали в пробирки на агаризованную среду, содержащую минеральные соли по Муросу — Скугу с добавлением тиамин, пиридоксина, никотиновой кислоты — по 0,5, мезоинозита — 100, сахарозы — 30 000, агар-агара — 6000 мг/л. Для пролиферации побегов использовали 6-бензиламинопурин в концентрации 0,60—0,75 мг/л и гибберелловую кислоту — 0,50—0,75 мг/л в зависимости от этапа культивирования.

Для укоренения побегов хризантем в качестве стимулятора корнеобразования в среду добавляли индолилуксусную или индолилмасляную кислоты в концентрации соответственно 1,0 и 0,75 мг/л. Микро растения с хорошо развитой корневой системой высаживали в пропаренную смесь торфа с перлитом в соотношении 3:1 и помещали в условиях искусственного тумана для дальнейшего доращивания. Культивирование вели при температуре 23—25 °С и 16-часовой длине дня. Повторность опыта — 20-кратная (1 пробирка — 1 повторность).

Результаты

Эксплантаты изучаемых сортов хризантем отличались высокой регенерационной способностью, которая четко проявлялась как в индукции каллуса, так и в пролифе-

рации побегов, если эксплантаты выделены в феврале. В этот период большая часть эксплантатов, введенных в культуру, развивалась в побеги, а меньшая — пролиферировала каллус. Каллусы были плотные, зернистые, бледно-зеленого цвета. При пассировании их на свежую питательную среду указанного выше состава индуцирования побегов каллусами не было отмечено.

Следует отметить, что у сортов хризантем, эксплантаты которых развивали как каллус, так и микропобеги, в основании последних также разрастался каллус. Он был рыхлый, водянистый, сероватого цвета. У микропобегов сортов Ля Роз, Таффета и Делайт каллус в месте их соприкосновения со средой не развивался.

У крупноцветковых поздноцветущих хризантем сортов Мей Шусмит и Стерлинг наряду с отмеченными выше регенерациями наблюдались регенерация уродливых побегов или развитие крупного листа. При пас-

сировании таких регенерантов на свежую питательную среду рост и развитие их прекращались.

На этапе введения в культуру у хризантем сохранились основные генетические свойства, присущие при размножении им в обычных условиях, что проявилось в силе роста побегов. При этом высота регенерантов крупноцветковых хризантем была в 1,8 раза больше, чем у регенерантов мелкоцветковых хризантем (табл. 1).

Побеги, полученные в 1-м пассаже, были высажены на свежеприготовленную среду для дальнейшего размножения. Сортовая реакция хризантем на культивирование в асептических условиях была выявлена и на этапе микроклонального размножения, что выражалось в силе роста микропобега. Так, у среднерослых хризантем сортов Ля Роз и Полисаде, высота растений которых в обычных условиях составляла соответственно 70—90 и 80—100 см, микропобеги были значительно короче, чем у высокорослого (110—160 см) сорта Стерлинг (табл. 2). Различие изучаемых сортов по высоте микропобегов наблюдалось на протяжении всех пассажей размножения.

В культуре *in vitro* сохранилась и характерная репродуктивная способность хризантем. Так, при обычном вегетативном размножении с одного маточного куста хризантем Ля Роз и Хоекс Бронсе получают по 25 черенков, а у сортов Мей Шусмит, Стерлинг — только по 12 черенков. В асептической культуре коэффициент размножения у первых в 2 раза превышал соответствующий показатель у последних (табл. 2).

Сортовая реакция мелкоцветковых хризантем на микроклональное размножение была различной. Во 2-м пассаже сорта Липстик

Таблица 1

Приживаемость эксплантатов хризантем в зависимости от сортов различного генетического происхождения (1-й пассаж)

Сорт	Приживаемость, %			Высота побега, мм
	общая	кал-лусы	по-беги	
<i>Крупноцветковые</i>				
Брайтнер	93,3	16,6	76,7	5,7
Полисаде	90,9	—	90,9	3,0
Хоекс Бронсе	100,0	9,1	90,9	3,2
Мей Шусмит	100,0	35,4	46,4	6,0
Стерлинг	100,0	10,4	58,1	8,7
<i>Среднецветковые</i>				
Ля Роз	77,8	—	77,8	4,1
<i>Мелкоцветковые</i>				
Уайт Боукет	100,0	27,5	72,5	2,1
Липстик	100,0	14,2	85,8	2,8
Снеппер	100,0	9,1	90,9	3,0
Таффета	64,5	—	64,5	2,7
Делайт	81,8	—	81,8	4,0

Таблица 2

Побегообразовательная способность крупноцветковых хризантем разных сортов

Показатель	Ля Роз	Хоекс Бронсе	Полисаде	Мей Шусмит	Стерлинг
<i>2-й пассаж</i>					
Количество высаженных побегов, шт.	6,0	10,0	6,0	5,0	9,0
Высота основного побега, мм	11,7	19,0	9,3	3,0	48,1
Листья, шт.	2,0	3,4	1,8	2,0	6,0
Дополнительные побеги, шт.	2,0	1,7	7,0	2,0	1,2
<i>3-й пассаж</i>					
Количество высаженных побегов, шт.	19,0	35,0	7,0	13,0	28,0
Высота основного побега, мм	18,0	32,4	28,5	18,6	51,8
Листья, шт.	3,8	4,2	4,1	3,8	5,2
Дополнительные побеги:					
шт.	2,6	2,4	1,2	3,0	1,9
высота, мм	7,8	16,1	10,0	9,4	18,0
<i>4-й пассаж</i>					
Количество высаженных побегов, шт.	57,0	85,0	13,0	21,0	46,0
Высота основного побега, мм	18,1	33,9	29,2	20,1	46,1
Листья, шт.	3,5	2,2	5,4	4,0	5,0
Дополнительные побеги:					
шт.	1,5	1,8	2,2	1,7	2,0
высота, мм	7,5	8,7	0,4	10,0	25,0
Всего побегов за 3 пассажа, шт.	125,0	146,0	37,0	29,0	88,0
Коэффициент размножения	20,8	14,6	6,2	5,8	9,8

и Таффета не росли в высоту, в течение всего периода культивирования она оставалась на том же уровне, что и при посадке (5 мм). Сила роста растений Уайт Боукет и

Снеппер была в 2 и более раз выше, чем у названных сортов. В 3-м и последующих пассажах выявлена сортовая реакция низкорослых сортов Липстик и Уайт Боукет (вы-

Таблица 3

Укореняемость различных сортов хризантем в стерильных и нестерильных условиях

Сорт	Стерильные условия			Нестерильные условия		
	высажено побегов, шт.	получено растений, шт.	укоренение, %	высажено растений, шт.	прижилось растений, шт.	приживаемость, %
Ля Роз	125	105	84,0	104	95	91,3
Полисаде	37	33	89,2	31	28	90,3
Хоекс Бронсе	146	128	87,7	125	115	92,0
Мей Шусмит	29	27	93,1	25	25	100,0
Стерлинг	88	75	85,2	74	68	91,9
Липстик	15	15	100,0	13	10	76,9
Уайт Боукет	90	88	94,7	85	85	100,0
Снеппер	109	98	89,9	98	95	96,9
Таффета	47	45	95,7	43	39	90,6
Делайт	39	38	97,4	35	35	100,0

сота растений 50—60 см). Сила роста их микропобегов была в 1,3—1,4 раза больше, чем у микропобегов высокорослых хризантем Снеппер и Таффета (высота растений 80—110 см).

На этапе микроклонального размножения микропобеги крупноцветковых хризантем по силе роста не отличались от таковых мелкоцветковых хризантем; различия наблюдались только по количеству листьев на один побег. Они имели на 2—4 листа меньше, чем микропобеги мелкоцветковых хризантем, что зависело от пассажа.

Сравнивая реакцию на культивирование *in vitro* крупноцветковых и мелкоцветковых хризантем, следует отметить, что из введенных в культуру в данный срок эксплантатов у крупноцветковых хризантем побеги развились в среднем в 65,4 % случаев, а у мелкоцветковых — в 80,4 %. При этом коэффициент размножения у хризантем сортов среднего срока цветения как у крупноцветковых, так и мелкоцветковых был наибольшим, у сортов позднего срока цветения — значительно ниже (табл. 3).

Побеги после 4-го пассажа высаживали на среду для укоренения. Укореняемость мелкоцветковых хризантем была на 10 % выше, чем крупноцветковых (табл. 3). Перенос растений из стерильных условий в нестерильные не оказал отрицательного влияния на укореняемость хризантем Мей Шусмит, Уайт Боукет, Делайт — все высаженные растения хорошо прижились, росли и развивались. Приживаемость хризантем остальных сортов была хуже, часть растений погибла. Приживаемость хризантем в нестерильных условиях составляла в среднем 90—92 %, за исключением сорта Липстик (погибло 23 % растений).

Анализ приведенного выше мате-

риала показывает, что хризантемы изучаемых групп и сортов в стерильной культуре в течение 5 пассажей (включая этап введения в культуру и укоренения) сохраняют совокупность присущих им признаков (высоту побега, количество листьев, коэффициент размножения).

ЛИТЕРАТУРА

1. Глазурина А. Н. Изучение потенциальной изменчивости хризантемы садовой под воздействием гамма-радиации.— В сб.: Цитогенетические и эмбриологические исследования многолетних растений. Ялта: ГНБ, 1983, т. 91, с. 130—137.— 2. Давоян Э. И. Культура каллуса и регенерация растений у риса как один из методов создания нового исходного материала для селекции.— Тканевые и клеточные культуры в селекции. М.: Колос, 1979, с. 23—31.— 3. Загорская А. Н., Шамина З. Б., Бутенко Р. Г. Изучение растений-регенерантов, полученных в культуре тканей табака.— Генетика, 1971, т. 7, № 3, с. 723—727.— 4. Митрофанова О. В., Зленко И. Л., Соболева Г. Ф., Феофилова О. А. Получение безвирусного материала хризантем.— Цветоводство, 1985, № 4, с. 11—12.— 5. Новикова В. М. Цитоземриологические исследования хризантемы садовой.— В сб.: Цитогенетические эмбриологические исследования многолетних растений. Ялта: ГНБ, 1983, т. 91, с. 83—91.— 6. Третьяк С. А. Размножение хризантем методом культуры ткани.— Биология культивируемых клеток и биотехнология. Новосибирск: ИЦИГ, 1988, ч. 1, с. 332.— 7. Фаустов В. В. Биологические основы технологии черенкования садовых культур.— Автореф. докт. дис. М., 1990.— 8. Шевцова Г. Г., Коев Г. В. Морфогенез хризантем в культуре.— Биология культивируемых клеток и биотехнология. Новосибирск: ИЦИГ, 1988, ч. 1, с. 138.— 9. De Jong, Custers I. B. M.— *Euphatica*, 1986, vol. 35, N 1, p. 137—148.— 10. Gotz W.— *Gartenbau*, 1987, Bd. 41, N 33, S. 1942—1944.— 11. Huitema I. B. M., Gussenhoven G. C.— *Acta*

hortic, 1987, vol. 197, vol. p. 89—91.—
12. *Кръетанова С., Цветков Й., Ненче-
ва Д.* Използване на in vitro методи за
бързо размножаване на хризантема.
Растениевъд. науки 1990, т. 21, в. 6,
с. 52—54.— 13. *Notzalaani K., Davey
Michael R., Power John B.*— Sci. hort.,

1989, vol. 38, N 3—4, p. 287—294.—
14. *Tarthasarathi B., Satyahari D. Das
Nilanjana, Chandra B. S.*— Plant Cell
Repts, 1990, Bd. 91, N 8, p. 439—442.

Статья поступила 18 марта 1992 г.

SUMMARY

Under in vitro conditions explants planted on agarized medium irrespective of the variety were distinguished by high regeneration ability which was clearly manifested both in callus induction and in sprout proliferation. In chrysanthemum in a sterile culture the set of inherent characters (the height of sprouts, the number of leaves, the reproduction coefficient) were preserved.