

УДК 573.6.:577.11-022.532

ПРИМЕНЕНИЕ ЦИТОАКТИВНОГО БИОПОЛИМЕР-СОЛЕВОГО КОМПОЗИТА С НАНОРАЗМЕРНЫМИ КРИСТАЛЛАМИ (ЛИТАР) В ТЕХНОЛОГИИ МИКРОКЛОНАЛЬНОГО РАЗМНОЖЕНИЯ МАЛИНЫ ЧЕРНОЙ (*RUBUS OCCIDENTALIS* L.)

О.Н. АЛАДИНА¹, С.В. АКИМОВА¹, С.Д. ЛИТВИНОВ²

(¹ РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева;² Самарский государственный аэрокосмический университет им. академика С.П. Королева (Национальный исследовательский университет))

Приведены предварительные результаты изучения влияния цитоактивного биополимер-солевого композита ЛитАр на эффективность размножение малины черной в стерильной культуре. Добавление в среду пластинок композитного материала положительно влияет на рост корневой системы и развитие листовой поверхности у регенератное как in vitro, так и в период акклиматизации микрорастений в нестерильных условиях.

Ключевые слова: микроклональное размножение, малина черная, биополимер-солевой композит, биоматериал, регенерация, акклиматизация.

В Самарском медицинском университете был создан коллаген-апатитовый композит ЛитАр для восполнения дефектов и регенерации различных типов ткани. Полусинтетический пористый материал ЛитАр состоит из полимерной органической основы (белковой, коллагеновой или полисахаридной, альгинатной), которая имитирует матрицу костной ткани, и солевого компонента, представленного гидроксилapatитом. Кристаллы соли нанометрических размеров формируются (выращиваются) на полимерных волокнах в ходе приготовления материала.

Биодеградируемый материал ЛитАр обладает способностью стимулировать регенерационные процессы. Он относится к нетоксичным материалам, не обладает аллергизирующими, мутагенными свойствами. Материал стерилизуется гамма-излучением (25 кГр) и может храниться 3 года без специальных условий [1].

Известно его применение в ортопедии, травматологии, нейрохирургии, стоматологии. Многолетними исследованиями показана универсальность действия материала ЛитАр и его модификаций. Они создают условия для репаративной регенерации как твердых тканей (костной, хрящевой), так и паренхиматозных мягких тканей (легочной, сердечной мышцы миокарда) организма. Это обстоятельство позволяет выдвинуть гипотезу о воздействии солевого компонента на стволовые клетки орга-

низма, обеспечивающие регенерацию. Экспериментально была показана возможность прохождения кристаллов апатита в ядро ствольной клетки. ЛитАр работает, вероятно, подобно своеобразной биологической матрице. Впрочем, механизм действия композита пока не изучен, очевидно, что оно действует на генетическом уровне.

Цель исследований — провести предварительные опыты по изучению влиянию материала ЛитАр в составе питательной среды на коэффициент размножения, регенерацию корней и развитие малины черной *in vitro*, а также флорирование надземной части и корневой системы при акклиматизации растений-регенерантов в нестерильных условиях.

Материалы и методы

Микропобеги черной малины (сорт Кумберленд), длиной 2,0-2,2 см (5-7 инициальных листьев) были высажены на среду размножения (MS, 6-БАП 0,6-1 мг/л), в которую после автоклавирования был добавлен стерильный композитный материал (в виде целых 0,5 x 0,5 см или измельченных пластин). Через 2 мес. после посадки на среду размножения проведены учеты по таким показателям, как коэффициент размножения, доля растений с корнями, средняя длина побегов, число, длина корней, облиственность побегов, площадь листьев. Укорененные и неукорененные микропобеги были высажены в кассеты с субстратом (торф верховой : перлит = 1:1); последние — для одновременной адаптации и укоренения *ex vitro*. Через 1,5 мес. после пересадки определяли регенерацию корневой системы (среднее число корней 1 и 2 порядка ветвления, их длину) и развитие листовой поверхности (число листьев, их площадь, средняя длина побегов). Повторность опыта — пятикратная, в каждой повторности по 10 растений. Статистическую обработку данных проводили методом дисперсионного анализа по Б.А. Доспехову.

Результаты и их обсуждение

В культуре *in vitro* у черной малины (сорт Кумберленд) [2, 3] отмечены небольшой коэффициент размножения, недостаточное удлинение побегов и длительное формирование корней.

Результаты исследований показали, что на этапе размножения добавление материала ЛитАр в среду весьма эффективно и зависит от способа внесения (целый или измельченный): предпочтительно заглубление целой пластины в агар в центре культурального сосуда.

В этом варианте на этапе размножения в 1,2 раза интенсивнее пролиферация пазушных почек, у 45% побегов (в контроле — 10%) формируется корневая система, при этом в 1,3-1,5 раза, увеличивается число и средняя длина корней, что приводит к достоверному увеличению их суммарной длины (в 2,5 раза) (табл. 1), больше средняя длина побегов. Укорененные микрорастения, минуя этап укоренения, можно пересаживать в субстрат.

При использовании композитного материала продлевается срок жизни инициальных листьев у микрорастений и ускоряется формирование молодых: суммарная площадь у тех и других в 2 раза больше, чем у контрольных растений (табл. 2).

Эти преимущества закономерно реализуются на этапе укоренения микропобегов *ex vitro* и дорастивания растений-регенерантов в нестерильных условиях: увеличивается объем корневой системы в 1,9 раза за счет усиления ветвления и увеличе-

Таблица 1

**Влияние материала ЛитАр на формирование корневой системы
у малины черной на этапе размножения в стерильной культуре**

| Вариант | Коэффициент размножения | Средняя длина побегов, см | Число корней, шт | Средняя длина корней, см | Суммарная длина корней, см |
|------------------------------------|-------------------------|---------------------------|------------------|--------------------------|----------------------------|
| Контроль | 1:1,7 | 3,8 | 2,8 | 4,9 | 13,7 |
| ЛитАр (целая пластина) | 1:2,1 | 5,1 | 4,4 | 8,4 | 36,9 |
| ЛитАр (измельченная пластина) | 1:2,4 | 4,1 | 1,7 | 7,3 | 12,4 |
| Превышение над уровнем контроля, % | | 34,2 | 57,1 | 71,4 | 169,3 |
| НСП ₀₅ | | 0,5 | 0,9 | 1,1 | 2,4 |

Таблица 2

**Влияние материала ЛитАр на формирование листовой поверхности
у малины черной на этапе размножения в стерильной культуре**

| Вариант | Облиственность микрорастений: число листьев старых/новых | Площадь листьев старых/новых, см ² | Суммарная площадь листьев старых/новых, см ² |
|-------------------------------|--|---|---|
| Контроль | 8,3/4,2 | 1,0/2,6 | 8,3/10,9 |
| ЛитАр (целая пластина) | 6,1/5,3 | 2,1/4,8 | 12,0/25,4 |
| ЛитАр (измельченная пластина) | 10,8/4,6 | 0,6/3,8 | 6,5/17,5 |
| НСП ₀₅ | 0,9/1,0 | 0,8/1,2 | 1,4/2,6 |

ния числа корней второго порядка, отмечается усиление роста, листообразования, увеличение площади листовой пластинки и, как итог, — достоверное и весьма существенное (в 4,2 раза) увеличение суммарной площади ассимиляционной поверхности через полтора месяца после пересадки (табл. 3, 4, рисунок).

Таблица 3

**Последствие материала ЛитАр на рост корней
у микрорастений малины черной при их адаптации к нестерильным условиям**

| Вариант | Среднее число корней, шт | | Средняя длина корней, см | Суммарная длина корней, см |
|---|--------------------------|------------|--------------------------|----------------------------|
| | 1 порядок | II порядок | | |
| Контроль | 4,1 | 80,3 | 12,3 | 181,2 |
| ЛитАр | 5,2 | 176,4 | 14,8 | 345,4 |
| Превышение по сравнению с уровнем контроля, % | 26,8 | 119,7 | 20,3 | 90,7 |
| НСР ₀₅ | 0,8 | 24,3 | 1,8 | 28,9 |

Таблица 4

**Последствие материала ЛитАр на развитие надземной части
у микрорастений малины черной при их адаптации к нестерильным условиям**

| Вариант | Число листьев, шт. | Средняя площадь листьев, см ² | Суммарная площадь листьев, см ² | Средняя длина побегов, см |
|---|--------------------|--|--|---------------------------|
| Контроль | 4,1 | 12,4 | 50,8 | 1,5 |
| ЛитАр | 6,2 | 34,8 | 215,8 | 2,6 |
| Превышение по сравнению с уровнем контроля, % | 51,2 | 180,6 | 424,8 | 73,3 |
| НСР ₀₅ | 1,2 | 12,1 | 26,7 | 0,6 |

Такое заметное опережение в росте и развитии по сравнению с контролем обеспечивает хорошую сохраняемость растений малины после пересадки *ex vitro*, более интенсивный начальный рост и сокращение периода выращивания корнесобственного посадочного материала в защищенном грунте.



а

б

Растения (ЛитАр, целая пластина) через месяц после пересадки в нестерильные условия: а — контрольные, б — опытные

Предполагается, что дальнейшие опыты по изучению морфогенеза при микроклональном размножении растений с использованием композитного материала помогут пролить свет на механизм действия последнего.

Библиографический список

1. *Литвинов С.Д.* Цитоактивный биополимер-солевой композит с наноразмерными кристаллами // Известия ТСХА. 2010. Вып. 4. С. 71-84.
2. *Расторгуев С.Л.* Возможности адвентивного органогенеза из соматических тканей малины // Современные достижения биотехнологии в виноградарстве и других отраслях сельского хозяйства /Всерос. науч.-исслед. ин-т виноградарства и виноделия. Новочеркасск, 2005. С. 116-121.
3. *Упадышев М.Т.; Высоцкий В.А.* Размножение ежевики и малины черной методом культуры тканей // Садоводство и виноградарство. 1991. Т. 6. С. 24-27.

THE APPLICATION OF CYTO-ACTIVE BIOLOGICAL POLYMER-SALT-BASE COMPOSITE MATERIAL (LITAR) WITH NANOCRYSTALS IN THE TECHNOLOGY OF BLACK RASPBERRY (*RUBUS OCCIDENTALIS* L.) MICROPROPAGATION

O.N. ALADINA¹, S.V. AKIMOVA¹, S.D. LITVINOV²

(¹RSAU-Timin azcv MAA, ²Samara State Aerospace University named after S.P. Korolev (National Research Institute))

The results of the preliminary investigation of the LitAr's effectiveness applied in the micropropagation of black raspberry with the use of axenic culture are presented. It was shown, that the addition of biopolymer-salt-base composite to the medium favours the root system growth and leaf surface development of micro plants both in vitro and during their acclimatization ex vitro.

Keywords: micropropagation, black raspberry, biopolymer-salt-base composite, biomaterial, regeneration, acclimatization.

Аладина Ольга Николаевна — д. с.-х. н., главный научный сотрудник лаборатории пловодства РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева (127550, г. Москва, Пасечная ул., 4а; тел.: (499) 976-14-82; e-mail: alberry7@yandex.ru).

Акимова Светлана Владимировна — к. с.-х. н., ведущий научный сотрудник лаборатории пловодства РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева. E-mail: asv11@rambler.ru.

Литвинов Сергей Дмитриевич — д. фарм. н., проф. кафедры технологии металлов и авиационного металловедения (443086, г. Самара, Московское шоссе, 34; тел.: 8 (846) 335-18-26; e-mail: litar21@yandex.ru).