

УДК 634.75:631.532:632.3

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИНГИБИТОРОВ ВИРУСОВ ПРИ ОЗДОРОВЛЕНИИ ЗЕМЛЯНИКИ МЕТОДОМ КУЛЬТУРЫ ВЕРХУШЕЧНЫХ МЕРИСТЕМ

О. О. ЕЕЛОШАПКИНА, В. А. ШМЫГЛЯ

(Кафедра фитопатологии)

Добавление синтетических препаратов ДГТ, нео-ДГТ, ААТ в концентрации 75—100 мг/л в питательную среду для культивирования *in vitro* верхушечных меристем земляники позволяет увеличивать размер эксплантатов до 0,7—1 мм, сокращать время регенерации растений, повышать выход оздоровленных безвирусных растений. L-333 в концентрации 75 мг/л обладает значительной фитотоксичностью и слабым антивирусным действием, поэтому его применение на землянике неэффективно.

В условиях Нечерноземной зоны РСФСР земляника заражена вирусами преимущественно в латентной форме, т. е. бессимптомно. В основном заболевания вызывают вирусы крапчатости, слабые штаммы вирусов морщинистости, их различные сочетания друг с другом и с вирусом пожелтения краев листьев. Зараженность земляники этими болезнями нередко является причиной значительного снижения продуктивности плантации [1].

Наиболее эффективным способом борьбы с вирусными заболеваниями является оздоровление посадочного материала земляники методом культуры верхушечных меристем. При этом обычно высаживают на питательную среду эксплантаты размером не более 0,5 мм, так как использование эксплантатов большего размера приводит к снижению выхода безвирусных растений [3]. Регенерация растений из эксплантатов указанного размера длится до 4—5 мес, к этому сроку значительное число их погибает. Термотерапия с целью увеличения безвирусной зоны в верхушечных меристемах малоэффективна, так как большинство вирусов, поражающих землянику, относятся к числу термостабильных.

В связи с этим встал вопрос об испытании на землянике химических ингибиторов вирусов, антивирусная активность которых была установлена на других вирусах, поражающих культурные растения [4].

### Методика

Для испытания были взяты синтетические препараты фенил-аллил-тиомочевина (L-333), 2,4-диоксогексагидротриазин (ДГТ), химический аналог ДГТ — нео-ДГТ, анилино-адамантил-тиадиазол (ААТ), переданные профессором Г. Шустером из Университета им. К. Маркса (Лейпциг, ГДР).

Мы исследовали действие этих препаратов при добавлении в питательную среду, на которой выращивали эксплантаты земляники сорта Фестивальная, выделенные из покоящихся почек растений, зараженных морщинистостью. Концентрация испытуемых веществ подбиралась экспериментально по пробной посадке апексов земляники. В качестве рабочих концентраций были приняты максимальные, не вызывающие существенного повышения процента гибели эксплантатов: для ДГТ, нео-ДГТ и ААТ — 100 мг/л, для L-333 — 75 мг/л.

Оздоровление проводили по следующей схеме. Верхушки рожков размером

1,5—2 мм высаживали на агаризированную питательную среду Мурасига и Скуга с добавлением ингибитора (первый пассаж). Через 20—25 дней из развившихся почек вновь выделяли верхушки длиной 0,1—1 мм и пересаживали их на свежую питательную среду того же состава (второй пассаж). Те регенеранты, у которых не произошло корнеобразования, через 20—30 дней пересаживали на среду с добавлением ИУК в концентрации 1 мг/л. Контролем в опыте были эксплантаты земляники того же размера, выделенные из растений, зараженных морщинистостью, и высаженные на питательную среду без ингибиторов (контроль 1). Одновременно высаживали на питательную среду без ингибиторов эксплантаты апексов обычных размеров — 0,3—0,5 мм (контроль 2). Варианты сравнивали по развитию растений, проценту регенерации и выходу оздоровленных безвирусных растений. Последнее определяли методом прививки на

индикаторные клоны земляники лесной *Fragaria vesca*. Математическую обработку данных проводили методом оценки разности между выборочными долями [2].

Т а б л и ц а 1

**Регенерационная способность  
эксплантатов земляники 0,7—1,5 мм  
на средах с ингибиторами вирусов**

Вариант	Высажено эксплантатов, шт.	Получено растений регенерантов,
L-333	400	3,0* **
ДГТ	500	23,6* **
Нео-ДГТ	480	22,9* **
ААТ	300	34,7
Контроль	160	36,2

Примечание. Здесь и далее двумя и тремя звездочками отмечены статистически достоверные различия между средними по вариантам соответственно на 1,0 и 0,1 % уровнях значимости.

**Результаты**

Испытанные нами вещества L-333, ДГТ, нео-ДГТ и ААТ оказывали неодинаковое действие на регенерационную способность эксплантатов земляники сорта Фестивальная (табл. 1). На среде с L-333 меристематические верхушки развивались значительно хуже, чем в контроле или на средах с другими ингибиторами. Ткани эксплантатов краснели, образовывались хлоротичные уродливые листья, растения росли очень медленно. Регенерационная способность эксплантатов на средах с ДГТ и нео-ДГТ была ниже, чем в контроле, однако на средах с ДГТ образовывались, как правило, двух- и трехрожковые регенеранты с 5—6 листьями, имеющие 4—5 корней, в то время как в контроле растения были однорожковыми. Регенерационная способность эксплантатов апексов на среде с ААТ существенно не отличалась от контрольной.

Выращенные растения регенеранты после подрачивания в теплице в течение 3—5 мес тестировали на содержание латентной вирусной инфекции прививкой на индикаторные клоны земляники лесной.

Данные табл. 2 показывают, что ДГТ, нео-ДГТ и ААТ вызывают инактивацию или значительное снижение концентрации вирусов, присутствующих в землянике в латентной форме. Препарат L-333 в применяемой концентрации не оказывал ингибирующего действия на вирусную инфекцию.

Стеблевые верхушки большого размера, культивируемые на питательной среде без ингибиторов, а также на среде с L-333, дали очень малый выход безвирусных растений, в то время как эксплантаты того же размера, но выращенные при двукратных посадках на среды с ингибиторами ДГТ, нео-ДГТ и ААТ, образовывали значительное количество безвирусных растений, сравнимое с их выходом при культивировании эксплантатов размером 0,3—0,5 мм (контроль 2).

При посадке эксплантатов размером 0,3—0,5 мм образование вытянутой точки роста происходило через 2—2,5 нед после посадки, а регенерант, способный перенести высадку из пробирки в почву, развивался через 3—4 мес (табл. 2). К моменту пересадки у них было в среднем по 3 копья, 3—4 листа, 1 рожок. Увеличение эксплантата до 0,7—1 мм,

Т а б л и ц а 2

**Оздоровление земляники от вирусной инфекции  
при использовании ингибиторов вирусов и развитие регенерантов**

Барнант	Протестировано растений	% оздоровленных	Развитие регенерантов			
			время регенерации, дней	листьев	число корней	рожков
L-333	10	20,0		Не опр.		
ДГТ	28	64,3***	45	5—6	4—5	2—3
Нео-ДГТ	27	55,6**	50	3—5	3	1—2
ААТ	32	59,4***	50	»	3	1—2
Контроль 1	20	15,0	45	»	4—5	1—2
Контроль 2	30	50,0	75	»	3	1

возможное при введении в питательную среду антивирусных препаратов ДГТ, нео-ДГТ и ААТ, незначительно влияло на приживаемость эксплантатов земляники, но заметно ускорило процесс образования растений регенерантов, готовых к пересадке в нестерильные условия, по сравнению с эксплантатами 0,3—0,5 мм. Регенеранты были способны перенести высадку из пробирки уже через 45—50 дней после посадки эксплантатов, имели достаточно развитые листовую аппарат и корневую систему.

Ингибиторы вирусов подавляют синтез вирусных частиц в растительных тканях. Хотя они и не вызывают полного удаления вирусов, но замедляют процесс репликации вирусных частиц и тем самым увеличивают безвирусную зону в активно делящихся верхушечных меристемах. Сочетание химиотерапии с культурой верхушечных меристем позволяет выращивать в культуре *in vitro* с целью оздоровления от вирусов эксплантаты большего размера, чем обычно, что особенно важно при оздоровлении древесных культур, имеющих низкую приживаемость апексов.

### Заключение

При оздоровлении земляники от вирусов методом культивирования верхушечных меристем целесообразно добавлять в питательную среду до и после выделения эксплантатов некоторые ингибиторы вирусов, в частности ДГТ, нео-ДГТ и ААТ в концентрации 100 мг/л. В этом случае повышается процент оздоровленных регенерантов при обычном размере эксплантатов (0,3—0,5 мм) и сокращаются сроки регенерации на 25—30 дней при увеличении их размера до 0,7—1 мм.

Препарат L-333 в концентрации 75 мг/л обладает значительной фитотоксичностью для эксплантатов земляники и слабой антифитовирусной активностью, вследствие чего его применение при оздоровлении земляники от вирусов неэффективно.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Белошапкина О. О. Биологическая продуктивность и урожайность земляники при вирусной инфекции. — Изв. ТСХА, 1985, вып. 5, с. 139—142.
2. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта. — М.: Колос, 1979.
3. Трушечкин В. Г., Тутунова Ш. М., Попов Ю. Г. Усовершенствование методов выращивания растений земляники из изолированных меристематических верхушек. — В кн.: Выращивание безвирусного посадочного материала плодовых и ягодных культур. М.: Колос, 1972/1973, т. V, с. 137—146.
4. Schuster G. — Zesz. probl. post. nauk roln., 183, No 291, p. 275—285.

*Статья поступила 7 апреля 1986 г.*

### SUMMARY

The results of testing synthetic preparations with antiviral effect are discussed. Being added into nutrient medium for cultivating *in vitro* the apical strawberry meristems, these preparations are used for strawberry sanitation. Application of preparations DGT, neo-DGT and AAT allows to increase the size of explants up to 0.7—1.0 mm, to shorten the time of plant regeneration, and to increase the yield of sanitized virus-free plants. L-333 in concentration 75 mg/l possessed rather high phytotoxicity and slight antiviral effect, that is why application to strawberry is not efficient.