

УДК 632.38:634.75

## ОЗДОРОВЛЕНИЕ ЗЕМЛЯНИКИ МЕТОДОМ КУЛЬТУРЫ АПЕКСОВ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ СИНТЕТИЧЕСКИХ ИНГИБИТОРОВ ВИРУСОВ

П. М. МАЛЫХИН, О. П. ВИНИЦКАЯ, В. А. ШМЫГЛЯ, Г. ШУСТЕР

(Кафедра фитопатологии ТСХА, Университет им. К. Маркса, Лейпциг, ГДР)

Изучалось действие синтетических противовирусных препаратов 2-тиоурацила, цианоганидина и Ro-1-1 (алкилсульфонат) в процессе культивирования апексов земляники *in vitro*. Применение указанных препаратов повышает выход оздоровленных растений в 1,6—2,4 раза, не требует дополнительных затрат труда и имеет большое преимущество перед термотерапией.

При оздоровлении земляники от вирусов используют различные методы: отбор, термотерапию, культуру верхушечных меристем и их сочетание. Отбор и термотерапия не обеспечивают оздоровления растений от некоторых вирусов, поскольку, во-первых, степень поражения большинства районированных и перспективных сортов очень велика; во-вторых, многие сорта несут вирусы бессимптомно; в-третьих, отдельные штаммы термостойки. Кроме того, растения земляники плохо переносят высокую температуру, при которой происходит инактивация некоторых вирусов, и поэтому выход полноценных растений невелик [1, 5].

Метод культуры верхушечных меристем ростовых почек растений для оздоровления от термостойких вирусов предложил Морель [2]. Он используется при оздоровлении земляники во многих странах [1, 8]. По данным ряда авторов [1, 4, 9], эксплантаты меристемы размером 250—500 мкм наиболее пригодны для регенерации свободных от вирусов растений. При их посадке выход здоровых растений земляники составляет 29—45 % [7]. Для повышения выхода безвирусных растений обычно применяют метод культуры апексов в сочетании с термотерапией и химиотерапией. Но термотерапия малоэффективна по отношению к термостойким вирусам, поражающим землянику. В последнее время все шире используется химиотерапия, т. е. применяются противовирусные препараты (АВП) в культуре *in vitro* [11, 13].

Большинство работ по химиотерапии вирусов растений выполнено на сравнительно хорошо изученных объектах — вирусах картофеля, томата, табака и других культур [3, 12, 14]. При обработке зараженных растений природными и синтетическими АВП подавляется вирусный синтез, снижается вредоносность вирусных болезней [3, 12, 14—16]. По отношению к ягодным культурам метод химиотерапии вирусных заболеваний пока еще находится на стадии разработки, и интерес к нему в последнее время растет. Данных о применении ингибиторов в культуре апексов земляники пока мало [6].

Сравнительно новым и перспективным путем применения АВП в оздоровлении культурных растений является сочетание химиотерапии и культуры апексов.

Целью нашей работы было изучить действие синтетических ингибиторов на подавление вирусной инфекции в культуре земляники *in vitro*, а также их влияние на результаты оздоровления методом культуры апексов.

### Материалы и методы

Материалом для наших исследований служили два сорта земляники — Редгонтлет, Зёнга Зенгана и клон UC-5 лесной земляники (*Fr. vesca*), искусственно зараженные (100 %) возбудителями суровой морщинистости (*Sivere Crinkle*) — вирусамии морщинистости и крапчатости. Исходный инфекционный материал был предо-

ставлен А. П. Походенко (НИЗИС Нечерноземной полосы). Нами были исследованы АВП синтетического происхождения: 2-тиоурацил, цианоганидин и Ro-1-1 (алкилсульфонат). Два последних препарата получены из ГДР. В предварительных опытах для каждого препарата была найдена рабочая, т. е. максимальная не-

фитотоксичная концентрация в питательной среде: 2-тиоурацил — 4 мг/л, цианогуанидин — 100, Ro-1-1—150 мг/л.

Оздоровление подопытного материала проводили на кафедре фитопатологии и в лаборатории защиты растений Тимирязевской академии методом культуры апексов по методике, описанной Ю. Г. Поповым [10]. В питательной среде размножения содержались макро- и микроэлементы по Мурасиге и Скугу и 0,5 мг 6-бензиламинопурина (6-БАП) на 1 л; в среде укоренения — макроэлементы по Готре, микроэлементы по Хеллеру; прочие добавки — согласно [10]. Размер выделяемых эксплантатов был 500—700 мкм, т. е. примерно вдвое больше обычного. Эффект от применения АВП оценивали по проценту выхода здоровых растений.

Работа состояла из следующих этапов:

а) стерилизация верхушечных почек розжков 0,5 см в 0,1 % растворе сулемы с последующей промывкой стерильной водой

и посадка на среду Мурасиге — Скуга с добавлением 0,5 мг/л 6-БАП;

б) культивирование растений в пробирках в течение 5—6 нед;

в) выделение эксплантатов размером 0,5—0,7 мм и перенос их на среду с АВП и 6-БАП;

г) культивирование растений в пробирках на среде с АВП в течение 5 нед при освещенности 4 тыс. лк по 16 ч в сутки на установке СУВР-1;

д) перенос регенерантов на среду укоренения;

е) высадка растений из пробирок сначала в перлит, затем в почву;

ж) проверка полученных клонов на зараженность вирусами.

Вирусологическую проверку полученных растений проводили индикаторным методом через 2 мес после высадки их из пробирок. Тест на клонах лесной земляники (UC-1, UC-5, FV-72, ЕМК) продолжался 6 мес.

### Результаты и их обсуждение

В табл. 1 приведены данные об оздоровлении сортов земляники Редгонтлет и Зенга Зенгана при использовании цианогуанидина, 2-тиоурацила и сочетания цианогуанидина и Ro-1-1.

Метод культуры апексов позволил получить растения земляники, свободные от вирусов крапчатости и морщинистости. Однако при добавлении АВП в среду выход безвирусных растений в сравнении с контролем увеличился в 1,8 и 1,7 раза по сорту Редгонтлет и в 2,4 раза — по сорту Зенга Зенгана. Вместе с тем ингибиторы вирусов несколько снижали приживаемость апексов и их регенерационную способность. Так, в контроле приживаемость апексов сорта Редгонтлет составила 81,7 %, получено 374 регенеранта, при добавлении в среду одного цианогуанидина и в сочетании с Ro-1-1 — соответственно 73,3 и 76,0 % и 327 и 234. Некоторое снижение количества регенерантов, полученных на среде с АВП, полностью компенсировалось повышением числа безвирусных растений в 1,6—2,4 раза в зависимости от ингибитора и сорта (из каждого клона тестировалось по одному растению).

Влияние 2-тиоурацила на выход оздоровленных растений изучалось нами и на лесной землянике (клон UC-5). Результаты этого опыта приведены в табл. 2. В варианте с 2-тиоурацилом получено в 1,8 раза больше растений без симптомов вирусной патологии, чем в контроле. Причем этот препарат более эффективно воздействовал на вирус крап-

Таблица 1

Оздоровление земляники в культуре апексов под влиянием ингибиторов

Вариант, доза препарата, мг/л	Высажено апексов, шт.	Прижив- апексы, %	Получено регенерантов, шт.		Тестируемые растения	
			всего	из них здоровые	всего	из них здоровые, %
Редгонтлет						
Контроль	60	81,7	374	117	49	34,7
Цианогуанидин, 100	60	73,3	327	194	44	61,4
Цианогуанидин+ Ro-1-1, 50+50	50	76,0	234	183	38	57,9
Зенга Зенгана						
Контроль	60	78,3	368	111	47	29,8
2-тиоурацил, 4	60	86,7	265	193	52	71,2

Подавление вирусной инфекции в культуре апексов *Fr. vesca* под влиянием 2-тиоурацила (высажено по 60 апексов)

Вариант	Прижив- апексы, шт.	Растения без симп- томов, %	Растения, %, с симптомами			
			крапчато- сти	морщи- ности		углова- того искрив- ления листочка
Контроль	53	32,1	28,3	32,1	30,2	7,5
2-тиоурацил, 4 мг/л	49	59,2	4,1	22,4	16,1	6,1

частости, чем на вирус морщинистости. Растений с симптомами морщинистости было на 18 % больше, чем с симптомами крапчатости.

Итак, испытанные синтетические ингибиторы при введении их в среду существенно снизили зараженность растений земляники, полученных из апексов размером 0,5—0,7 мм; выход безвирусных растений в этих вариантах на 66,8—138,9 % больше, чем в контроле. Следовательно, можно предположить, что АВП ингибировали репродукцию вирусов в меристематических тканях апексов. В дальнейшей работе предполагается испытать другие ингибиторы вирусов.

### Выводы

1. Введение ингибиторов вирусов 2-тиоурацила, цианогуанидина и Ro-1-l (алкилсульфонат) в питательную среду при выделении и культивировании апексов земляники существенно (в 1,6—2,4 раза) увеличивает выход оздоровленных растений.

2. Химиотерапия в сочетании с культурой апексов может стать простым и надежным методом, позволяющим увеличить эффективность оздоровления растений земляники без дополнительных затрат труда. Применение химических ингибиторов позволяет отказаться от термотерапии.

### ЛИТЕРАТУРА

- Абраменко Н. М! Получение безвирусной суперэлиты земляники методом верхушечных меристем. — В кн.: Вирусные болезни плодово-ягодных культур и винограда в Молдавии. Кишинев: Картя Молдовеныскэ, 1973, вып. 2, с. 25—50.
- Абраменко Н. М. Культура верхушечных меристем некоторых растений с целью оздоровления их от вирусной инфекции. — Сб. докл. VI Всесоюз. совещ. по вирусным болезням растений, ч. 1, М.: ВАСХНИЛ, 1971, с. 25—26.
- Бобрырь А. Д. Вирусные болезни растений и изыскание эффективных средств борьбы с ними. — Микробиол. журн., 1978, т. 40, № 2, с. 242—252.
- Жаркова И. В., Попова И. В. Особенности размножения новых сортов и элитных сеянцев земляники методом культуры меристематических верхушек. — В сб.: Прогрессивные технологии в плодководстве и виноградарстве. М.: ТСХА, 1982, с. 78—82.
- Зирка Т. И. Вирусные болезни земляники. — Защита растений, 1977, № 4, с. 51—52.
- Минаев В. Ю. Вирусные болезни земляники в Нижнем Поволжье. — Автореф. канд. дис., М., 1985.
- Попов Ю. Г., Мишина А. П. Получение безвирусных растений *Fragaria vesca* методом культивирования *in vitro* изолированных верхушек стебля. — В кн.: Культура земляники в СССР. М.: Колос, 1972, с. 385—389.
- Пономарева В. С. Методы оздоровления с.-х. растений от вирусов. — Карантин растений, 1977, вып. 24, с. 25—33.
- Попов Ю. Г. Оздоровление земляники, пораженной вирусными заболеваниями, с помощью культуры изолированных меристематических верхушек. — С.-х. биология, 1974, т. 9, № 5, с. 694—697.
- Попов Ю. Г. Оздоровление и размножение плодовых и ягодных растений методом культуры меристематических верхушек / Метод, указания — М.: ВАСХНИЛ, 1979.
- Cassels A. C., Long R. D. — *Potato Research*, 1982, vol. 25, N 2, p. 165—173.
- Kyhn Q. — *Intervirology*, 1977, N 8, p. 37—43.
- Simpkins L., Walkey D. G. A., Neely H. A., Heather A. — *Ann. appl. Biol.*, 1981, vol. 99, N 8, p. 161—169.
- Schuster G. — *Phytopath. Z.*, 1982, Bd. 103, N 1, S. 77—86.
- Sands D., Walton S. — *Plant Dis. Reporter*, 1975, vol. 69, N 7, p. 573—576.
- Tomlinson J. A. — In: *Pathogens, Vectors and Plant Diseases: Approaches to Control*. Academic press, N. Y. etc., 1982, p. 23—44.

## SUMMARY

The effect of synthetic antiviral preparations 2-thiouracil, cyanoguanidine, and Ro-I-1 (alkylsulfonate) was studied in cultivating strawberry apexes *in vitro*. The use of the preparations increases 1.6—2.4 times the yield of recovered plants, does not require additional labour, and is much more advantageous than thermotherapy.