

УДК 634.721:631.532:58.037

ЭЛЕКТРОСТИМУЛЯЦИЯ РОСТА И РАЗВИТИЯ ЧЕРНОЙ СМОРОДИНЫ В КУЛЬТУРЕ IN VITRO

**Н.Н. ТРЕТЬЯКОВ, Л.И. ГАВРИКОВА,
К.И. КАМЕНСКАЯ, П.М. МАЛЫХИН**

(Кафедра физиологии растений)

На примере изучения трех сортов черной смородины показана возможность улучшения качества регенерантов на питательной среде Мурасиге — Скуга и увеличения коэффициента размножения посредством обработки апексов и микропобегов электростатическим полем напряженностью 5 и 10 кВ/м.

При традиционных способах размножения смородины передача сорта на испытание происходит через 9-14 лет [4]. С целью сократить сроки доведения сорта до потребителя ведутся разработки более совершенных методов размножения, среди которых весьма перспективным является клональное размножение. Вместе с тем накопленный опыт по микроклональному размножению смородины [1-3, 6, 11] показывает, что все еще не удается получить достаточно большой выход растений-регенерантов, поскольку не все апексы на питательной среде развиваются в побеги. При разделении конгломерата побегов одиночные побеги зачастую гибнут [12]. Укореняемость их в стерильных условиях находится в пределах 80%.

Известны способы улучшения жизнедеятельности растений путем электростимуляции. Первые эксперименты по изучению влияния электромагнитных

полей на растительные объекты in vitro были проведены в 80-е годы [14]. Пропускание слабого тока силой 1 и 3 мкА между каллусом табака и средой стимулировало заложение побегов и усиливало их рост в 5 раз по сравнению с контролем. Аналогичные результаты были получены и на пшенице [15]. Влияние слабых электрических токов на индукцию дифференциации наблюдалось на культуре одиночно выращиваемых клеток и протопластов. Обработка меристемной ткани цимбидиума электрическим полем значительно повысила органогенез [16]. Стимулирующее влияние электростатического поля отмечено нами на ягодных культурах [7]. Все изложенное выше позволило предположить, что обработка электростатическим полем может быть использована для ускорения размножения новых сортов черной смородины.

Целью работы явилось изучение воз-

возможности использования электростатического поля для увеличения коэффициента размножения при одновременном улучшении качества побегов смородины.

Методика

Исследования проводили в лаборатории физиологии растений Тимирязевской академии и в лаборатории культуры изолированных тканей и органов Республиканской научно-исследовательской плодопитомниководческой станции (РНИПС).

В опыте использовали смородину сортов Сеянец Голубки, Зеленая Дымка, Минай Шмырев, № 3-36-69. Верхушечные и боковые почки брали в зимний период с пробудившихся однолетних черенков. Из них вычленили апексы размером 0,5-0,8 мм и помещали в пробирку на среду Мурасие — Скуга с добавлением: тиамина, пиридоксина, никотиновой кислоты — по 0,5 мг/л; аскорбиновой кислоты — 1,0; мезоинозита — 100; сахарозы — 30 000; агар-агара — 6000 мг/л. В качестве индукторов роста использовали 6-бензиллаинопурин (6-БАП) в концентрации 1-3 мг/л.

Пробирки помещали в электростатическое поле с экспериментально выбранными оптимальными параметрами: на этапе введения в культуру — 5 кВ/м, на этапе микроразмножения — 10 кВ/м. При этом отрицательный полюс источника питания соединяли с латунной сеткой, находящейся над растениями на высоте 26 см. Положительный полюс подсоединяли к алюминиевой пластине, находящейся под растительным объектом (рисунок). Воздействие электростатического поля не прекращалось на протяжении всего пассажа (30 дней).

Культивирование вели в камере фитотрон при 16-часовой длине дня. Температура $25 \pm 2^\circ \text{C}$; освещенность 3000 лк.

Результаты

Обработка электростатическим полем апексов смородины оказала положи-

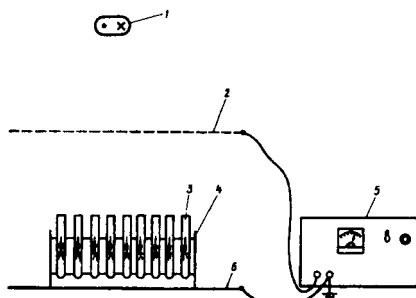


Схема проведения экспериментов.

- 1 — источник света; 2 — латунная сетка с ячейками 2x2; 3 — пробирки с растительным материалом; 4 — штатив;
- 5 — источник высокого напряжения; 6 — токопроводящая пластина.

тельное воздействие как на их приживаемость, так и на дальнейший рост побега-регенеранта.

Например, в опыте с сортом Сеянец Голубки при обработке апексов на этапе введения в культуру в контроле и в опытном варианте приживаемость составляла соответственно 88,6 и 94,4%, высота побега — 6,1 и 8,1 мм (при НСР₀₅ 1,1 мм), число листьев — 2,8 и 3,7 (при НСР₀₅ 0,44 шт.). Побеги опытного варианта отличались от контроля также большей интенсивностью окраски, т.е. были темно-зелеными, сочными. Аналогичная картина наблюдалась и на смородине сорта Минай Шмырев. Электростимуляция повысила приживаемость апексов на питательной среде, увеличила линейные размеры побега-регенеранта и число образовавшихся листьев соответственно на 18, 13 и 30%.

Следует обратить внимание на то, что реакция сортов на электростимуляцию была различной. Так, приживаемость обработанных электростатическим полем апексов сорта Минай Шмырев была выше, чем у апексов Сеянца Голубки, на 5%, а высота побегов-регенерантов — на 20% меньше.

Под действием электростатического поля увеличиваются аксиальные гради-

енты (вдоль стебля) биоэлектрических потенциалов побегов, что приводит к улучшению их функционального состояния и выражается в конечном итоге в интенсификации роста и развития.

Особенно сильное стимулирующее влияние электростатического поля проявилось на этапе микроразмножения. Регенеранты смородины сортов Зеленая Дымка, № 3-36-69, не обработанные на этапе введения в культуру электростатическим полем, и регенеранты смородины сорта Минай Шмырев, подвергшиеся такой обработке, были пересажены на свежеприготовленную среду для микроразмножения в пробирки, которые помещали в электростатическое поле.

Воздействие электростатического поля на этапе микроразмножения проявилось в увеличении дополнительной пролиферации пазушных почек и усилении роста микропобега (таблица). Так, микропобеги сортов Зеленая Дымка и № 3-36-69 при однократной обработке электростатическим полем образовали в 1,3 раза больше дополнительных почек, чем контрольные, а их высота была больше на 20%.

Рост и развитие микропобегов черной смородины при обработке электростатическим полем напряженностью 10 кВ/м

Сорт	Контроль		Опыт	
	высота побега, мм	число дополнительных побегов, шт.	высота побега, мм	число дополнительных побегов, шт.
Зеленая Дымка	7,8	3,5	9,4	4,8
№3-36-69	8,5	2,1	10,8	2,9
Минай Шмырев	7,6	2,5	10,0	3,7

При 2-кратной обработке электростатическим полем апексов и побегов сорта Минай Шмырев получено дополнительных побегов в 1,5 раза больше по сравнению с контролем, причем побеги были выше контрольных на 31%.

При сравнении между собой сортов

на этапе микроразмножения были выявлены их сортовые особенности. Так, самыми высокими были микропобеги у № 3-36-69 (таблица), они оказались в 1,2 раза выше побегов у сортов Зеленая Дымка и Минай Шмырев. По количеству дополнительных побегов выделялся сорт Зеленая Дымка. У этого сорта их образовалось в 1,4-1,6 раза больше, чем у сортов Минай Шмырев и № 3-36-69.

Смену стерильных условий нестерильными растения, обработанные электростатическим полем, легче переносят, они быстрее трогались в рост и опережали по высоте контрольные растения в среднем на 3 см в течение месяца.

До сегодняшнего дня нет единого мнения о механизме электростатического влияния на растения. В многочисленных работах рассматриваются различные механизмы действия тока на растения. Одни авторы указывают на прямое участие электрических токов как энергетической валюты в конформационных перестройках и энергизации молекул хлорофилла, мембран хлоропластов и всей ультраструктуры клетки для осуществления фотосинтеза [8]. Другие свидетельствуют о том, что фитогормоны играют значительную роль в изменении биоэлектрической активности и соответственно ионного обмена [9]. Вы сказано также предположение, что возникающая под действием фитогормонов электрическая поляризация клетки может способствовать латеральному передвижению функционально активных мембранных белков [5, 14].

Мы придерживаемся того мнения, что при пропускании тока через растения в первую очередь меняются нативные градиенты потенциалов тканей органов и целого растения, обусловленные мембранными потенциалами. Изменения последних в силу тесной функциональной связи практически со всеми физиологическими процессами в растениях вызывают изменения в их росте и развитии.

Воздействие электростатическим полем в стерильной культуре на черную смородину может быть использовано при выращивании высококачественного посадочного материала как одно из звеньев в технологической цепочке. Прежде всего это касается сортов черной смородины, полученных с участием сибирского подвида. Известно, что даже при обычном размножении сорта сибирского подвида гораздо хуже укореняются по сравнению с сортами европейского подвида [13].

Выводы

1. Электростимуляция на этапе введения в культуру повысила приживаемость апексов смородины на питательной среде на 12-17%, увеличила линейный рост регенеранта на 30%.

2. В результате электростимуляции на этапе микроклонального размножения возросли коэффициент размножения в 1,3 раза и высота побега на 20-31% в зависимости от сорта смородины.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Бленда В.Ф., Кириленко Е.Д.* Регенерация черной смородины из апикальных меристем. — Физиол. и биохим. культурных растений, 1982, т. 14, № 13, с. 244-247. — 2. *Бурдасов В.М., Тананькина Т.В.* Клональное микроразмножение черной смородины. — В сб.: Лекарственные растения Алтайского края. Томск: Томский мед. ин-т, Алтайский мед. ин-т им. Лен. комсомола, 1986, с. 58. — 3. *Высоцкий В.А., Поликарпова Ф.Я., Тарашвили Б.Т.* Микроклональное размножение черной и красной смородины. Метод. указания. М.: НИЗИСНП, 1986. — 4. *Глебова Е.И., Оглуздина Т.Н.* Сорта черной смородины селекции Ленинград. с.-х. ин-та. М.: Госагропром СССР, ВДНХ, 1987. — 5. *Гродзинский Д.М.* Фоторегуляция метаболизма и морфогенеза растений. М.: Наука, 1975. — 6. *Джизайло М.И.* Клональное микроразмножение черной и красной смородины. — В сб.: Селекция и сортоизучение черной смородины. Мичуринск: ВНИИ садоводства им. И.В. Мичурина, 1988, с. 141-143. — 7. *Каменская К.И., Гаврикова Л.И., Третьяков Н.Н., Малыгин П.М.* Влияние электростимуляции на рост и развитие смородины в стерильной культуре. — В сб.: Регенерация растений. Тез. докл. Всесоюзной науч. конф. Махачкала: Изд-во Даг. ун-та, 1991, с. 148-149. — 8. *Китлаев Б.Н.* Теоретические и прикладные аспекты фтоэлектрических воздействий на семена и растения. — Механизация и электрификация сельск. хоз-ва, 1982, № 4, с. 21-26. — 9. *Кулаева О.Н.* Гормональная регуляция физиологических процессов у растений на уровне синтеза РНК и белка. М.: Наука, 1982. — 10. *Медведев С.С.* Влияние электрических градиентов и фитогормонов на рост и транспорт минеральных веществ у проростков кукурузы. — Автореф. канд. дис. Л., 1975. — 11. *Туровская Н.И., Альшевцева Л.И.* Микроразмножение черной смородины. — В сб.: Селекция и сортоизучение черной смородины. Мичуринск: ВНИИ садоводства им. И.В. Мичурина, 1988, с. 143-148. — 12. *Тананькина Т.В.* Опыт клонального микроразмножения черной смородины. — В сб.: Ускорение научно-технического прогресса в плодородстве и виноградарстве и задачи молодых ученых. Матер. науч. конф. молодых ученых. Алма-Ата: НПО «Алматы», 1987, с. 36-37. — 13. *Степанов С.Н.* Задачи науки в развитии питомниководства. — Плодоовощное хоз-во, 1986, № 9, с. 16-19. — 14. *Goldsworthy A., Rathore K.S.* — J. Exp. Bot., 1985, vol. 36, N 168, p. 1134-1141. — 15. *Miura Voskigki.* — JEE Trans. Biomed. Eng., 1988, vol. 33, N 2, p. 242-247. — 16. *Shuba S., Nosol R.* — Proc. Nat. Acad. Sci., USA Biol. Sci., 1984, vol. 81, N 19, p. 6064-6067.

Статья поступила 24 июля 1993 г.

SUMMARY

Using three varieties of European black currant as an illustration, the possibility to improve the quality of regenerants on Murasige-Skuga nutrient medium and to increase reproduction coefficient by treating apices and microsprouts with electrostatic field of 5 and 10 kV/m intensity is shown.