

УДК 58.085:634.10

СПОСОБ ПОВЕРХНОСТНОЙ СТЕРИЛИЗАЦИИ ЭКСПЛАНТОВ ПОДВОЯ ЯБЛОНИ СК 7 ДЛЯ КУЛЬТУРЫ *IN VITRO*

Федорович С.В., Винтер М.А., канд. с.-х. наук,

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия" (Краснодар)

Реферат. В работе представлены результаты применения дезинфицирующих таблеток «ОКА-ТАБ» в качестве средства для поверхностной обработки эксплантов подвоя яблони СК 7. Наибольшая эффективность дезинфицирующих таблеток «ОКА-ТАБ» (0,5 %-й раствор, экспозиция 5 минут) отмечена в период интенсивного роста побегов (май-июнь). В это время эффективность поверхностной обработки эксплантов подвоя яблони СК 7 от патогенной микрофлоры составляла 91 %.

Ключевые слова: стерилизация, культура *in vitro*, контаминация, некроз, экспланты, подвой яблони.

Summary. The article presents the results of the using of disinfectant tablets «ОКА-ТАБ» as a means for the surface treatment of explants of SK 7 of rootstock of apple tree. The greatest efficiency of «ОКА-ТАБ» disinfectant tablets (0.5% solution, exposure for 5 minutes) was noted during the period of intensive shoot growth (May-June). At this time, the efficiency of surface treatment of explants of the rootstock SK 7 from pathogenic microflora was 91%.

Key words: sterilization, *in vitro* culture, contamination, necrosis, explants, apple rootstocks.

Введение. В специфических условиях климата юга России на плодовых культурах развиваются многочисленные грибные и бактериальные болезни. С началом вегетации происходит постепенное накопление спор микроорганизмов находящихся на поверхности растений, под чешуйками почек, в опушенных листьях [1].

Введение в культуру *in vitro* – это важнейший этап клонального микроразмножения, именно здесь проявляются те свойства растений, которые будут характеризовать их с точки зрения эффективности культивирования *in vitro*. Хорошая результативность введения в культуру зависит от многих факторов, наиболее важным из которых, по мнению исследователей, считаются следующие: схема стерилизации и тип используемых стерилизаторов; видовые и сортовые особенности растений; сезон проведения работы; возраст и качество используемых эксплантов [2-4].

При введении в культуру большое значение имеет предварительная обработка почек. Стерилизация исходного материала является сложной задачей, так на поверхностных тканях растений находятся споры грибов и бактерий, а питательные среды являются хорошим субстратом для развития грибной и бактериальной микрофлоры. При выборе стерилизующего агента необходимо выполнить 2 условия: нейтрализовать микрофлору и не повредить ткань растения. Хорошо вымываться из тканей.

Цель работы: изучить возможность использования дезинфицирующих таблеток «ОКА-ТАБ» в качестве стерилизатора эксплантов при введении их в культуру *in vitro*.

Объекты и методы исследований. Исследования проводили на базе лаборатории вирусологии ФГБНУ СКФНЦСВВ. В качестве объекта исследований использовали подвой яблони СК 7. Инициацию эксплантов в культуру *in vitro* проводили в период – начало роста побегов – март-апрель, активного роста – май-июнь, затухание роста – август-сентябрь.

Срезанные верхушки побегов промывались сначала мыльным раствором, затем в течение часа в проточной воде. Для испытания в качестве стерилизующего экспланты

вещества выбраны таблетки торговой марки «ОКА-ТАБ». Таблетку массой 3,3 г растворяли в дистиллированной воде. При растворении таблетки выделяется 1,41-1,87 г активного хлора. Для дезинфекции эксплантов использовали 0,5 % раствор. Обработку эксплантов проводили в экспозиции 5 минут. Как стандартный вариант использован 0,1 %-й раствор хлорида ртути (сулема), продолжительность обработки 2 минуты. После стерилизации экспланты 4-хкратно промывались в стерильной дистиллированной воде по 5 минут, для лучшего удаления остатков дезинфицирующих средств.

Экспланты помещали в пенициллинки на среду содержащую макро- и микроэлементы по прописи Мурасиге и Скуга (МС), 30 г/л сахарозы и 8 г/л агар-агара, дополненную 0,3 мг/л, 6-бензиламинопурина (6-БАП), 1 мг/л аскорбиновой кислоты.

Культивирование осуществляли в климатической комнате при температуре $24 \pm 2^\circ\text{C}$, 16-часовом фотопериоде и освещенности 2500-3000 люкс.

Обсуждение результатов.

В ходе работы испытывали действие дезинфицирующего средства выпускаемого в форме таблеток «ОКА-ТАБ». Учитывали наличие контаминации, некроза объектов и жизнеспособных эксплантов (табл.).

Таблица – Эффективность стерилизации по срокам введения в культуру эксплантов подвоя СК 7

Стерилизующий агент, концентрация	Экспозиция, мин	Количество введенных апексов, шт	Эффективность стерилизации, шт (%)			Эффективность, %
			некроз	инфекция	жизнеспособные	
март-апрель						
HgCl ₂ , 0,1 %	2	64	8	21	35	55
Раствор «ОКА – ТАБ», 0,5 %	5	72	16	26	30	42
май-июнь						
HgCl ₂ , 0,1 %	2	152	4	4	141	93
Раствор «ОКА – ТАБ», 0,5 %	5	118	4	7	107	91
август-сентябрь						
HgCl ₂ , 0,1 %	2	85	25	35	25	40
Раствор «ОКА – ТАБ», 0,5 %	5	105	55	35	15	14

По результатам обработок видно, что 0,5 % раствор таблеток показывает очень высокую эффективность при обработке эксплантов подвоя яблони СК 7 в период активного роста побегов (май-июнь). Эффективность санации составляет 91 % (в

стандартном варианте 93 %), уровень контаминации эксплантов подвоя СК 7, 3 и 6 % соответственно (табл.). Некроз эксплантов в вариантах составлял 3 %.

В период начала роста побегов (период искусственного пробуждения побегов) эффективность обработки была существенно ниже. Приживаемость эксплантов в данный период была ниже, как в стандартном варианте, так и в варианте с таблетками. Уровень контаминации эксплантов в начальный период роста побегов составлял более 33-36 %, т.е. стерилизующие растворы не всегда справлялись с патогенной микрофлорой, находящейся под кроющими чешуями почек. Некроз эксплантов от 13 % в стандартном варианте до 22 % в варианте с таблетками.

При обработке эксплантов подвоя яблони СК 7 в период завершения активного роста (август-сентябрь), выход жизнеспособных эксплантов в варианте с обработкой раствором «ОКА-ТАБ» составляла 14 %, в стандартном варианте (сулема, 0,1 %) – 40 %. Высокий уровень контаминации в этот период обусловлен накоплением инфекционного начала на поверхности побегов. Количество инфицированных эксплантов – 41 и 33 % соответственно. В этот период отмечено наиболее сильное негативное влияние стерилизаторов на растительные ткани. Некроз эксплантов составлял 52 % в варианте с обработкой хлорсодержащими таблетками, и 29 % в стандартном варианте.

Выводы. С наибольшей эффективностью дезинфицирующие таблетки «ОКА-ТАБ» (0,5 %-й раствор, экспозиция 5 минут) рекомендуется использовать в период интенсивного роста побегов (май-июнь). В этот период количество поверхностной микрофлоры минимально и эффективность поверхностной обработки эксплантов подвоя яблони СК 7 хлорсодержащими таблетками составляет 91 %.

Литература

1. Бунцевич Л.Л. Исследование эффективности антибиотиков и стерилизаторов нового поколения для подавления бактериальной и грибной контаминации среды и эксплантов / Л.Л. Бунцевич, Е.Н. Палецкая, М.А. Костюк, Н.И. Медведева [Электронный ресурс] // Плодоводство и виноградарство Юга России. 2012. № 16(4). С. 44–53. URL: <http://journalkubansad.ru/pdf/12/04/06.pdf>. (дата обращения: 20.09.2019).
2. Ломовская Л. В. Методы оздоровления и размножения перспективных форм груши *in vitro* / Л. В. Ломовская // Достижения науки и техники АПК.- 2004.- №3. - С. 13-15.
3. Методические рекомендации по использованию биотехнологических методов в работе с плодовыми, ягодными и декоративными культурами / под ред. Е.Н. Джигадло. – Орёл: ГНУ ВНИИСПК, 2005. – 50 с.
4. Технология клонального микроразмножения яблони и груши (методические рекомендации). – Мичуринск-наукоград РФ. – 2008. – 32 с.