



## ПРЯМАЯ РЕГЕНЕРАЦИЯ МИКРОПОБЕГОВ ИЗ ЛИСТОВЫХ ДИСКОВ КИВИ (*ACTINIDIA DELICIOSA* (CHEV.) LIANG, FERGUSON) В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*

И.В. МИТРОФАНОВА

Государственный Никитский ботанический сад УААН  
Украина, 98648 Ялта

*Разработан способ прямой регенерации микропобегов из листовых дисков киви. Определены факторы, влияющие на морфогенетические потенции листовых дисков 4 сортов киви (Бруно, Монти, Томури, Саништон) в условиях *in vitro*. Получен генетически однородный растительный материал.*

Микроклональное размножение рассматривается прежде всего как возможность вегетативного размножения растений и их оздоровления от патогенов. Использование данного способа в последние годы значительно расширилось для клоновой селекции, криосохранения, создания генобанка *in vitro* ценных сортов и видов растений [1]. Изучение морфогенетических потенций органов и тканей *Actinidia deliciosa* (Chev.) Liang, Ferguson в условиях *in vitro* представляет большой теоретический и практический интерес. Растения киви были получены с помощью активации уже существующих меристем [2]. И. Катаока и его сотрудникам удалось регенерировать микропобеги из первичного и субкультивируемого каллюса [3], который был гетерогенен. Такая изменчивость может быть ценной в селекционном процессе, однако для размножения, получения трансгенных растений, криосохранения и создания генобанка *in vitro* необходимо адвентивное побегообразование, при котором сохраняются все признаки материнского растения.

В отделе биотехнологии Государственного Никитского ботанического сада УААН (ГНБС УААН) проводятся исследования по разработке методов прямой регенерации из листовых эксплантов плодовых, декоративных и лекарственных растений. Целью таких

исследований была индукция прямой регенерации из листовых дисков 4 интродуцированных сортов киви (Монти, Бруно, Саништон и Томури). Листовые диски диаметром 1 см помещали адаксиально и абаксиально на модифицированную питательную среду Мурасиге—Скуга, содержащую различные концентрации и сочетания веществ ауксинового и цитокининового типа действия. Колбы и пробирки находились в культуральной комнате с температурой  $26 \pm 1^\circ\text{C}$  и фотопериодом 16 ч. В процессе исследования изучали влияние интенсивности освещения (0,5—3 клк) на регенерацию побегов из эксплантов, культивируемых на питательной среде МСА1<sup>1</sup>, дополненной 1—3 мг/л бензиламинопурина (БАП) и индолуксусной кислоты (ИУК). Контрольные пробирки помещали в термостат. Процент листовых дисков, образующих микропобеги, определяли на 4-й и 8-й неделях культивирования. Полученные результаты показали, что частота регенерации микропобегов зависела от генотипа растений. Так, у сорта Бруно количество пролиферирующих эксплантов через 4 недели культивирования составило 53 %. При этом у сортов Монти, Саништон и Томури данный показатель был значительно ниже. Ориентация листовых дисков на питательной среде сильно влияла на образование микропобегов. Меристе-

<sup>1</sup> Модифицированная среда Мурасиге — Скуга.



моиды, имеющие розовую окраску, формировались как вдоль жилки, так и по краю экспланта. При адаксиальном расположении листовых дисков количество регенерирующих микропобегов и процент первичных эксплантов, образующих микропобеги, возрастали. Предварительно было изучено влияние различных соотношений цитокинина БАП и ауксинов ИУК, нафтилуксусной (НУК) и индолилмасляной (ИМК) кислот на регенерацию микропобегов. Установлено, что только внесение в питательную среду БАП и ИУК индуцировало активное побегообразование. Оптимальные концентрации БАП и ИУК — 1—3 мг/л. Максимальное количество микропобегов было получено после 8 недель культивирования. Увеличение или уменьшение концентраций фитогормонов в питательной среде снижало частоту побегообразования. Внесение в питательную среду 10 мг/л БАП приводило к образованию рыхлого бесцветного каллюса. Изучение влияния интенсивности освещения на регенерационную способность киви показало, что в отсутствии освещения образовывались единичные этиолированные микропобеги, интенсивность освещения 2 клк стимулировала формирование меристемоидов и повышала регенерационную способность до 90 %, а при увеличении освещенности первичные экспланты коричневели и погибали. Через 8 недель культивирования листовых дисков от них отделяли микропобеги размером 1—2 см и помещали на среду МСА2 для дальнейшего субкультивирования и среду МСА3 для корнеобразования. Полученные регенеранты высаживали в субстрат, содержащий торф, песок и перлит.

Таким образом, была получена эффективная прямая регенерация *in vitro* микропобегов из листовых дисков 4 сортов киви (Бруно, Монти, Саништон и Томури). Преимущество данного метода в том, что он

исключает этап каллюсообразования, уменьшая риск соматональной изменчивости. Этот метод может быть успешно использован при тиражировании однородного посадочного материала и получении трансгенных растений.

1. Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе: Учеб. пособие. — М.: ФБК-ПРЕСС, 1999. — 160 с.
2. Митрофанова И.В. Микроклональное размножение субтропических и тропических плодовых культур (обзор литературы) // Биотехнологические исследования садовых и других ценных многолетних культур: Сб. науч. трудов / Гос. Никит. ботан. сад. — 1997. — Т. 119. — С. 63—95.
3. Kataoka I., Nakahira M., Inoue H. Active shoot regeneration in callus culture of kiwi fruit (*Actinidia chinensis* Planch.) // Tech. Bull. of the Faculty of Agric. Kagawa Univ. — 1987. — 39, № 1. — P. 21—26.

Поступила 20.03.2000

#### ПРЯМА РЕГЕНЕРАЦІЯ МІКРОПАГОНІВ З ЛИСТКОВИХ ДИСКІВ КІВІ (*ACTINIDIA DELISIOSA* (CHEV.) LIANG, FERGUSON) В УМОВАХ *IN VITRO*

І.В. Митрофанова

Державний Никітський ботанічний сад УААН  
Україна, Ялта

Розроблено спосіб прямої регенерації мікропагонів з листових дисків ківі. Визначено фактори, що впливають на морфогенетичні потенції листових дисків 4 сортів ківі (Бруно, Монти, Томури, Саништон) в умовах *in vitro*. Отримано генетично однорідний рослинний матеріал.

#### DIRECT REGENERATION OF MICROSHOOTS FROM LEAF DISKS OF KIWI FRUIT (*ACTINIDIA DELISIOSA* (CHEV.) LIANG, FERGUSON) *IN VITRO*

I.V. Mitrofanova

State Nikita Botanical Gardens,  
Ukrainian Academy of Agrarian Sciences,  
Ukraine, Yalta

The method of direct regeneration of microshoots from leaf disks of kiwi fruit is developed. The factors influencing morphogenetic potency of leaf disks of 4 kiwi fruit cultivars (Bruno, Monti, Tomuri, Sanishton) in condition *in vitro* are determined. The genetically uniform plant material is obtained.