



# Клональное микроразмножение ежевики и малино-ежевичных гибридов

Выполнила:

ученица 11 Б класса

Пархимович Полина

Руководитель: учитель биологии –

Пархимович М.Н.

## *Актуальность проблемы*

В последние годы среди населения увеличился интерес к таким нетрадиционным культурам как ежевика и малино-ежевичные гибриды, обладающие большой урожайностью, высокими вкусовыми качествами; и которые в отличие от распространенной у нас малины в меньшей степени подвержены заболеваниям.



**Метод культуры тканей - современный биотехнологический способ размножения, позволяющий многократно увеличивать коэффициент размножения и получать оздоровленный посадочный материал.**



- Цель работы – изучить свойства и оптимизировать условия клонального микроразмножения ежевики и малино-ежевичных гибридов.

- Задачи:

- 1) определить оптимальные условия введения в культуру эксплантов ежевики и малино-ежевичных гибридов;
- 2) оценить регенерационную способность сортов на этапе пролиферации;
- 3) оценить способность растений к укоренению и адаптации к нестерильным условиям;

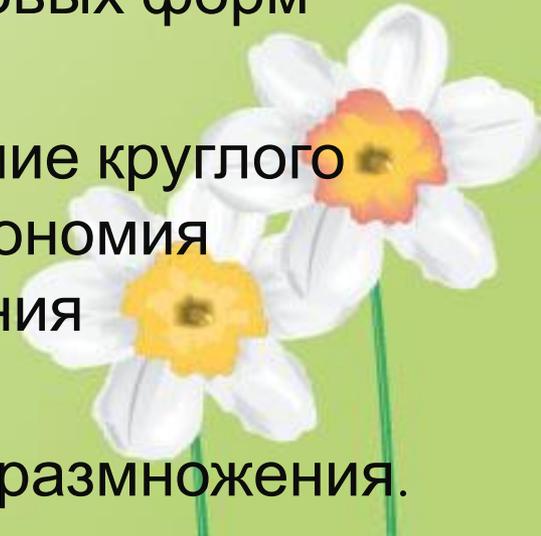


## *Биологические особенности ежевики*

Ежевику, так же как и малину, относят к полкустарникам. Надземная часть ее куста живет два года, а подземная — многолетняя. Плоды по окраске бывают черными, пурпуровыми, красными и желтыми.



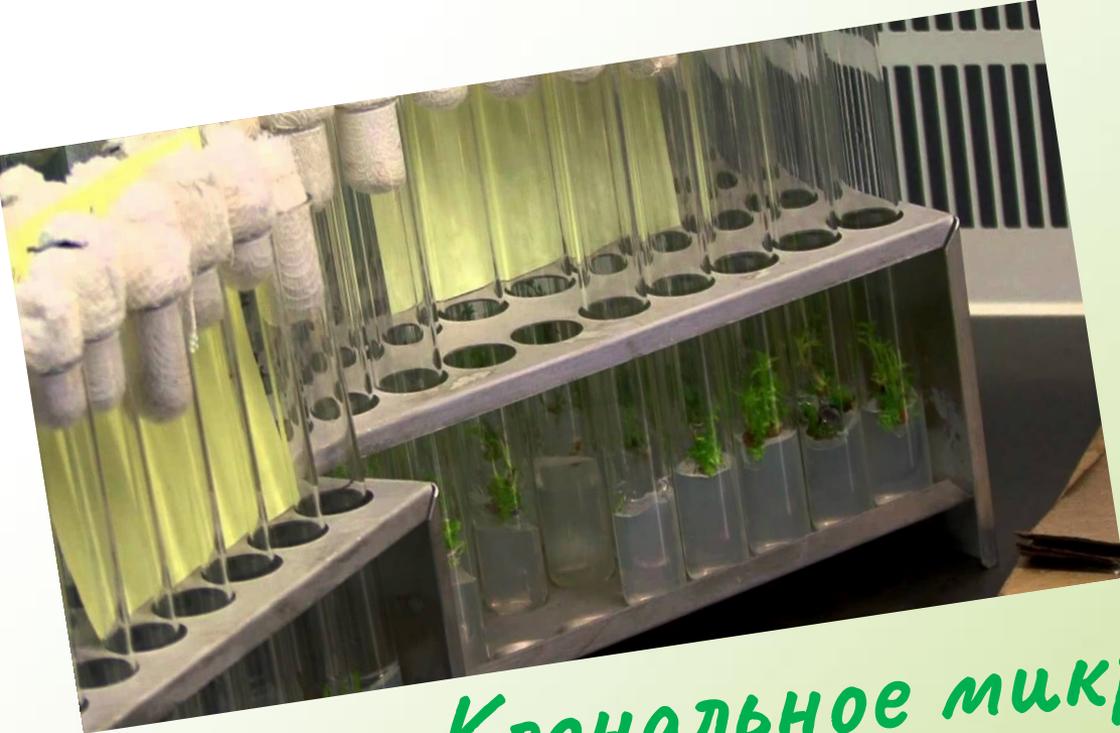
- ***Метод клонального микроразмножения имеет ряд преимуществ перед существующими традиционными способами размножения:***
- – получение генетически однородного посадочного материала;
- – освобождение растений от переносчиков системных болезней;
- – высокий коэффициент размножения (сотни тысяч растений от одной меристемы в год);
- – ускорение селекционного процесса в два–три раза за счет сокращения сроков размножения новых форм растений;
- – возможность проведения работ в течение круглого года без контакта с внешней средой и экономия площадей, необходимых для выращивания посадочного материала;
- – возможность автоматизации процесса размножения.



*Процесс микроразмножения растений состоит из ряда последовательных операций:*

- 1) выделение экспланта и введение в культуру *in vitro*;
- 2) пролиферацию побегов на среде для размножения;
- 3) укоренение размноженных побегов
- 4) перенос укорененных растений в нестерильные условия.

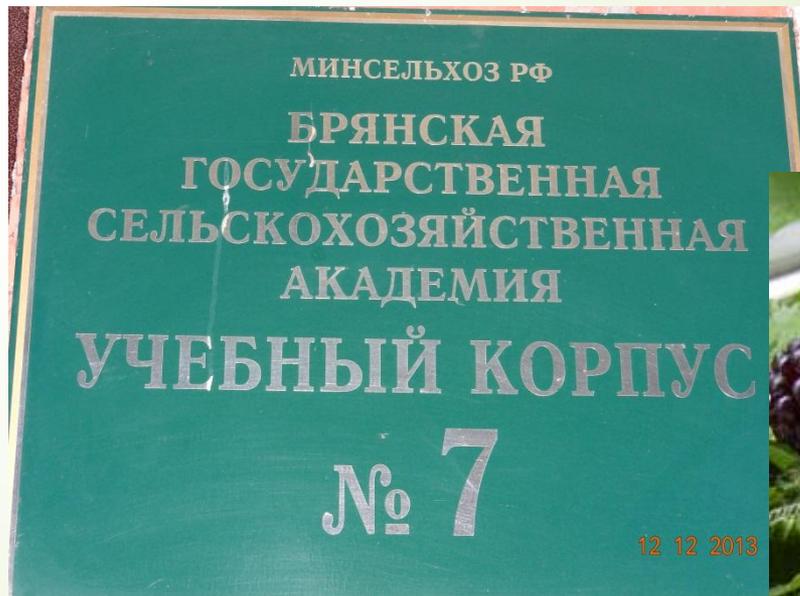




# Клональное микроразмножение малино-ежевичных гибридов



# ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ



# *I этап Введение в культуру in vitro*

## Техника размножения ежевики в культуре in vitro



# Приготовление и стерилизация питательной среды.

## Среда Мурасиге-Скуга:

| Название компонентов      | Количество (мг/л) |
|---------------------------|-------------------|
| $KNO_3$                   | 1900              |
| $NH_4NO_3$                | 1650              |
| $MgSO_4 \times 7 H_2O$    | 370               |
| $KH_2PO_4$                | 170               |
| $CaCl_2 \times 2 H_2O$    | 440               |
| $Na_2 ЭДТА$               | 111,9             |
| $FeSO_4 \times 7 H_2O$    | 83,4              |
| $H_3BO_3$                 | 6,2               |
| $MnSO_4 \times 4 H_2O$    | 22,3              |
| $ZnSO_4 \times 7 H_2O$    | 8,6               |
| KJ                        | 0,83              |
| $Na_2MoO_4 \times 2 H_2O$ | 0,25              |
| $CuSO_4 \times 5 H_2O$    | 0,025             |
| $CoCl_2 \times 6 H_2O$    | 0,025             |
| Инозит                    | 100               |
| Сахароза                  | 30000             |
| Никотиновая кислота       | 0,5               |
| Пиридоксин                | 0,5               |
| Тиамин                    | 0,1               |
| Аскорбиновая кислота      | 1,0               |

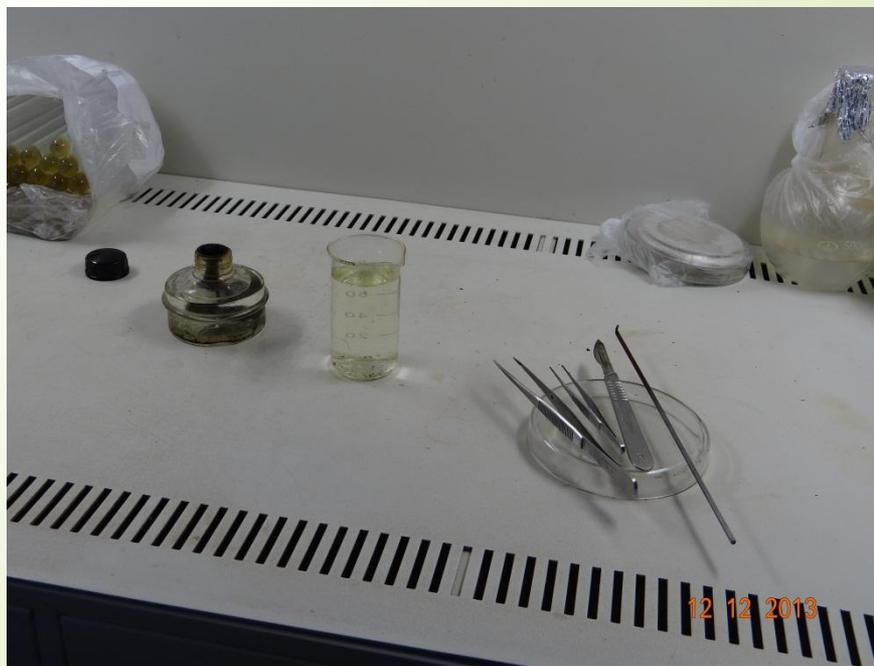
Подготовка растительного материала для введения в культуру *in vitro*.



# Стерилизация материала



# Изолирование эксплантов



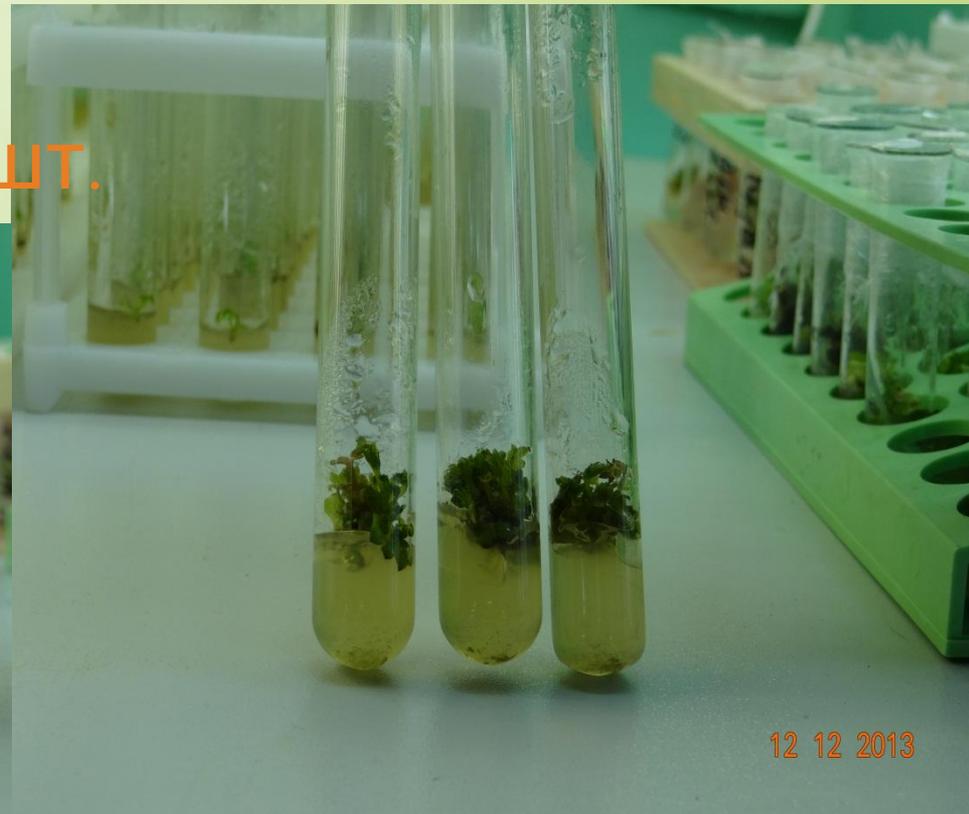


# Микрочеренкование и субкультивирование растений

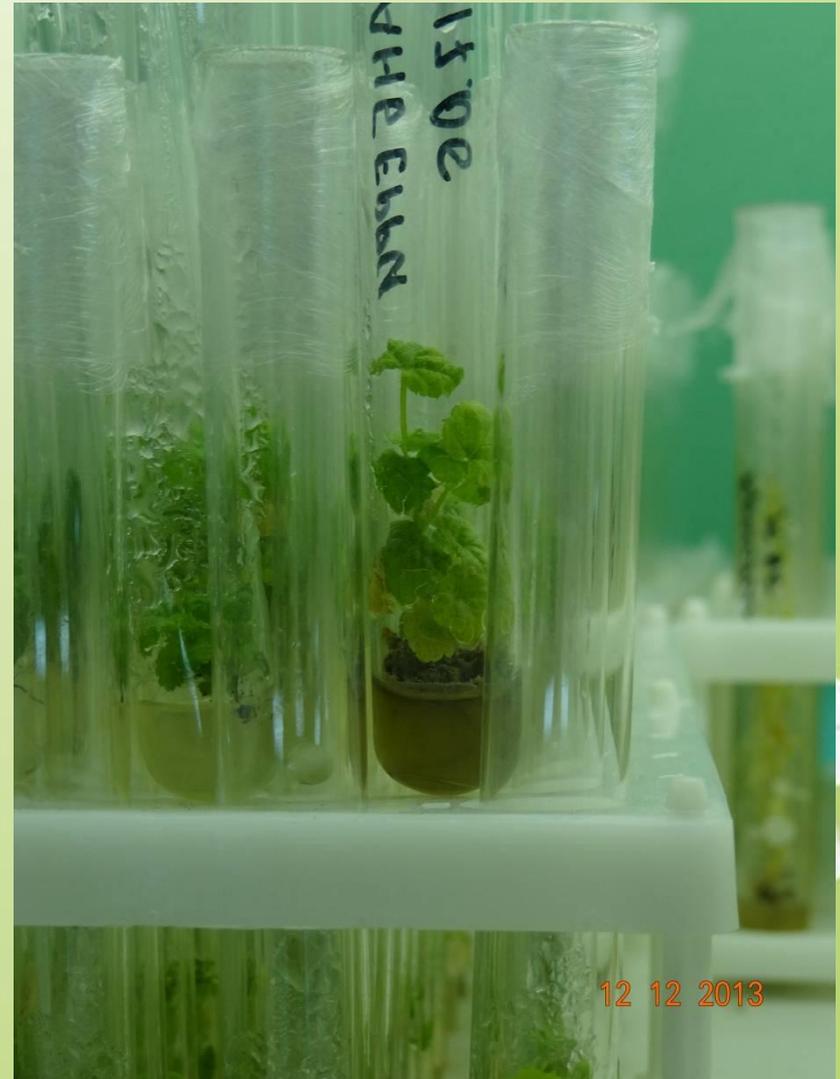


## II этап Размножение (пролиферация)

- коэффициент размножения – среднее количество образовавшихся побегов на одном растении;
- высоту растений, см;
- количество листьев, шт.



# III этап Элонгация



# IV этап Укоренение, адаптация к нестерильным условиям







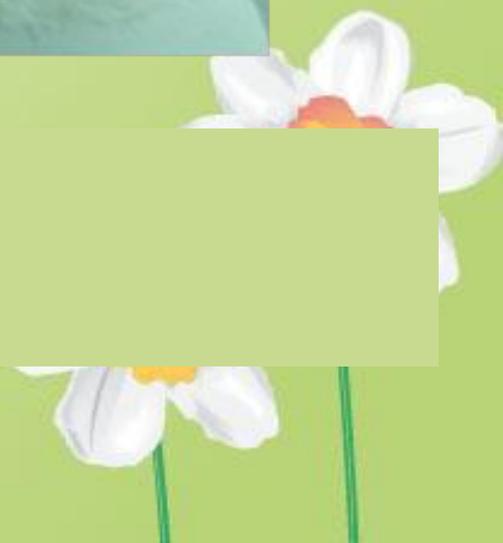
# РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

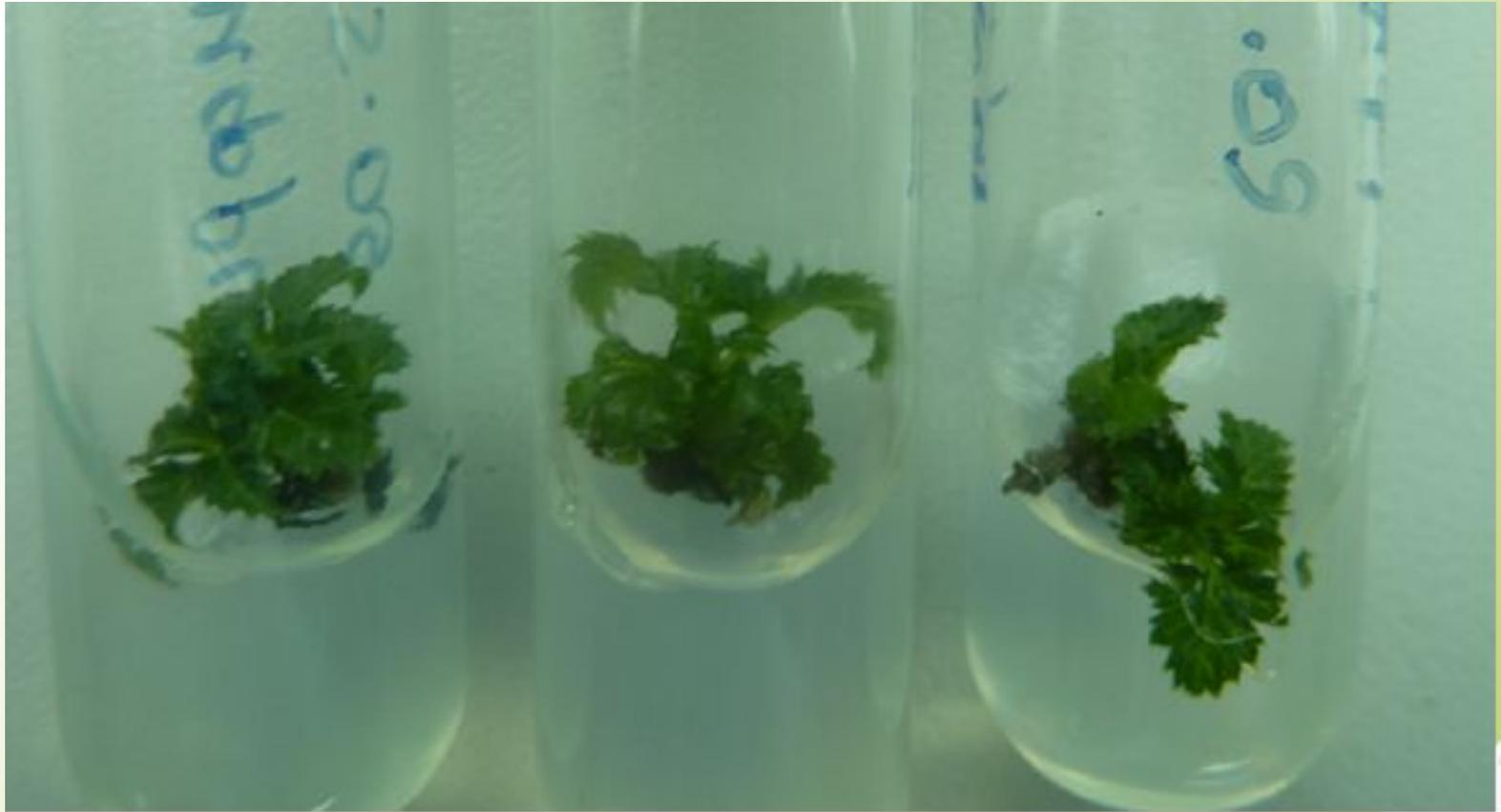
## Введение ежевики и малино-ежевичных гибридов в культуру *in vitro*

| № п.п.                          | Сорт              | Дата<br>изолирования | Количество<br>изолированных<br>эксплантов, шт. | Частота<br>контаминац<br>ии, % | Количество<br>почек на<br>эксплант, шт. | Высота<br>растений, мм |
|---------------------------------|-------------------|----------------------|--|--------------------------------|---|------------------------|
| <b>Ежевика</b>                  |                   |                      |  |                                |   |                        |
| 1                               | Торнфри           | 25.09                | 45   | 11,1                           | 1,4±0,15                                | 7,7±0,30               |
| 2                               | Торнлесс Эвергрин | 24.09                | 40   | 50                             | 1,3±0,12                                | 9,9±0,53               |
| <b>Малино-ежевичные гибриды</b> |                   |                      |  |                                |   |                        |
| 3                               | Бойсенберри       | 24.09                | 50   | 38,0                           | 1,6±0,13                                | 8,2±0,48               |
| 4                               | Тайберри          | 25.09                | 47   | 12,8                           | 1,5±0,09                                | 6,5±0,27               |
| 5                               | Санберри          | 24.09                | 47   | 19,1                           | 1,7±0,11                                | 7,7±0,39               |
| 6                               | Логанберри        | 21.09                | 43   | 44,2                           | 1,1±0,06                                | 5,3±0,28               |

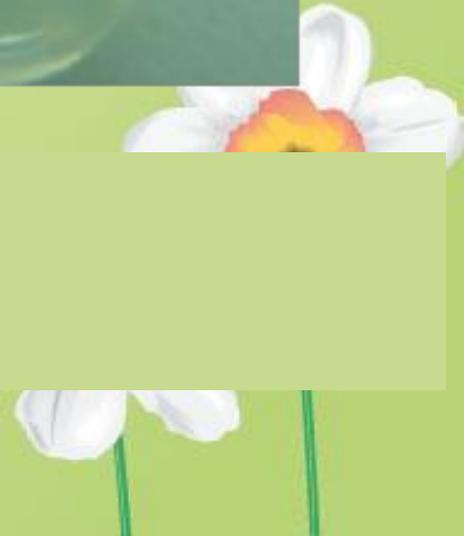


*Торнлесс Эвергрин*





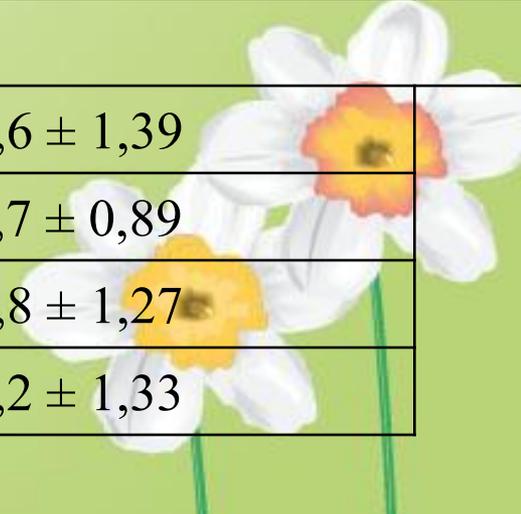
Торнфри



# Этап пролиферации растений ежевики и малино-ежевичных гибридов

- Коэффициент размножения и высота растений в культуре *in vitro*

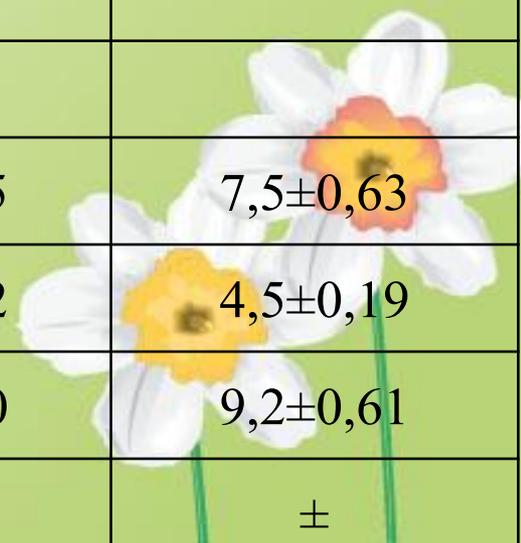
| Сорт                     | Коэффициент размножения | Высота растений, мм |
|--------------------------|-------------------------|---------------------|
| Ежевика                  |                         |                     |
| Торнфри                  | $4,8 \pm 0,68$          | $20,9 \pm 1,21$     |
| Торнлесс Эвергрин        | $3,4 \pm 0,64$          | $12,9 \pm 1,33$     |
| Малино-ежевичные гибриды |                         |                     |
| Бойсенберри              | $7,5 \pm 0,63$          | $17,6 \pm 1,39$     |
| Тайберри                 | $\pm$                   | $11,7 \pm 0,89$     |
| Санберри                 | $8,7 \pm 0,83$          | $18,8 \pm 1,27$     |
| Логанберри               | $2,3 \pm 0,31$          | $18,2 \pm 1,33$     |



# Элонгация побегов и адаптация растений к нестерильным условиям культивирования

## Качество растений на этапе элонгации

| № п.п.                   | Сорт              | Доля укорененных растений, % | Высота растений, мм | Количество листьев, шт. |
|--------------------------|-------------------|------------------------------|---------------------|-------------------------|
| Ежевика                  |                   |                              |                     |                         |
| 1                        | Торнфри           | 23,8                         | 18,5±1,03           | 7,9±0,41                |
| 2                        | Торнлесс Эвергрин | 0                            | 12,7±0,82           | 5,1±0,23                |
| Малино-ежевичные гибриды |                   |                              |                     |                         |
| 3                        | Бойсенберри       | 55,9                         | 15,1±0,65           | 7,5±0,63                |
| 4                        | Тайберри          | 13,7                         | 13,7±0,82           | 4,5±0,19                |
| 5                        | Санберри          | 6,2                          | 14,4±0,70           | 9,2±0,61                |
| 6                        | Логанберри        |                              | ±                   | ±                       |



# В результате своей работы я сделала следующие выводы:

- 1) Для стерилизации ежевики и малино-ежевичных гибридов следует использовать в качестве антисептика 0,1% раствор мертиолята;
- 2) Введены в культуру *in vitro* 2 сорта ежевики и 4 сорта малино-ежевичных гибридов;
- 3) Определены коэффициенты размножения исследуемых сортов: для сорта Торнфри он составил  $4,8 \pm 0,68$ , Торнлесс Эвергрин  $3,4 \pm 0,64$  и т.д.;
- 4) Для вытягивания побегов после этапа пролиферации необходимо включать дополнительный этап элонгации. Для этого полученные микропобеги ежевики следует культивировать на безгормональной питательной среде;
- 5) Для адаптации следует использовать питательный грунт на основе торфа. Для предупреждения интенсивной потери влаги высаженное растений помещается в условий с 100% влажностью воздуха;
- 6) Изучила свойства и оптимизировала условия клонального микроразмножения ежевики и малино-ежевичных гибридов.

