АНДРЮШЕЧКИНА Г.В., ЛУКАТКИНА Н.Н.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА ПРИ КЛОНАЛЬНОМ РАЗМНОЖЕНИИ ДЕКОРАТИВНЫХ РАСТЕНИЙ *IN VITRO*

Аннотация: Представлен анализ современного состояния исследований в области применения регуляторов роста для ускоренного размножения декоративных растений в культуре *in vitro*. Показана необходимость использования синтетических и/или природных регуляторов роста, принадлежащих к ауксинам и цитокининам, а также возможность включения в состав питательной среды других регуляторов роста.

Ключевые слова: ауксины, декоративные растения, клональное размножение, культура *in vitro*, регуляторы роста, цитокинины.

ANDRYUSHECHKINA G.V., LUKATKINA N.N.

USE OF PLANT GROWTH REGULATORS AT CLONAL PROPAGATION OF ORNAMENTAL PLANTS *IN VITRO*

Abstract: The present state of research in the use of growth regulators for rapid propagation of ornamental plants in the culture *in vitro* is submitted. It was shown the necessity of the use of synthetic and/or natural growth regulators belonging to auxins and cytokinins, as well as the other growth regulators inclusion in the culture medium.

Keywords: auxins, ornamental plants, clonal propagation, culture *in vitro*, growth regulators, cytokinins.

Одной из актуальных проблем современной биологии является разработка новых способов размножения растений. Это необходимо для решения возрастающих запросов растениеводства на получение достаточного количества свободного от патогенов посадочного растительного материала [2]. Ведущую роль в создании высококачественного посадочного материала приобретают биотехнологические методы [1, 9]. Технология клонального икроразмножения растений *in vitro* обеспечивает более высокий коэффициент размножения по сравнению с традиционными способами, позволяет провести оздоровление посадочного материала от нематод, грибов, бактерий, частично от вирусов и вироидов [1, 7]. При использовании метода клонального размножения появляется возможность увеличить коэффициент размножения до сотен тысяч и даже миллионов растений-регенерантов в год с одного маточного растения [10, 11].

В основе метода клонального размножения лежит способность растительной клетки под влиянием экзогенных регуляторов роста дать начало целому растительному организму

[1]. Культура тканей стала мощным инструментом расширения возможности процессов регенерации для различных видов растений [7, 11].

В настоящее время возрастает необходимость ускоренного размножения ценных декоративных видов растений [2–4]. При оптимизации технологий массового производства растений важно обеспечить их экономическую эффективность за счет снижения затрат на химические реактивы, удешевления питательных сред и повышения адаптационной способности пробирочных растений к условиям *in vivo* при увеличении выхода и качества конечной продукции [2, 6].

На эффективность клонального размножения влияет масса факторов различной природы, в т.ч. физиологические особенности вводимого в культуру растения, химические и физические условия культивирования [7, 9]. Химические факторы (компоненты среды), оказывающие влияние на клональное микроразмножение, – гормоны, минеральные соли, витамины и углеводы [4, 10]. Применение регуляторов роста является одним из самых перспективных путей повышения продуктивности растений в культуре *in vitro*. Их эффективность во многом определяется потенциальными возможностями самих растений, а также условиями выращивания [3].

Спектр регуляторов роста, применяемых в цветоводстве, достаточно широк и с каждым годом продолжает расширяться [3, 12]. В качестве экзогенных регуляторов роста могут применяться как природные, так и синтетические соединения. Их использование позволяет усиливать или ослаблять признаки и свойства растений в пределах нормы, заданной генотипом, повышать устойчивость растений к неблагоприятным условиям, компенсировать недостатки сортов и гибридов. Благодаря высокой эффективности действия в малых дозах эти препараты обычно удовлетворяют современным все более жестким требованиям экологической безопасности [10].

В качестве базовых регуляторов роста при клональном размножении используют ауксины и цитокинины. При высоком соотношении цитокинин/ауксин происходит развитие пазушных меристем или образование адвентивных почек, при низком – индуцируется корнеобразование, а при среднем – наблюдается образование и пролиферация каллуса [1]. Наиболее часто при клональном микроразмножении в качестве ауксиновых компонентов используют индолилуксусную кислоту (ИУК), реже – индилилмасляную (ИМК) или нафтилуксусную кислоту (НУК); кинетин и 6-бензиламинопурин (БАП) представляют при этом цитокинины [7, 10, 14, 16]. Кроме перечисленных цитокининов, используются и другие, у которых активность в стимуляции образования побегов выше (например, тидиазурон) [7]. При введении в культуру *in vitro* гиацинтов предпочтительнее использовать кинетин, так как БАП задерживает начало первичной регенерации, а из ауксинов – НУК [3].

Многие исследователи отмечают, что у растений на средах, содержащих только ауксины, наблюдается ингибирование роста побега в длину и его ветвление [10]. Добавление цитокинина в питательную среду практически не оказывает влияния на укореняемость, количество и длину корней, в то же время наблюдается существенное увеличение прироста побега. Необходимо отметить, что для многих декоративных растений, в соответствии с их биологическими особенностями, усиление роста надземной системы является важным моментом в системе клонального размножения. Обычно во всех вариантах комбинированного использования ауксинов и цитокининов наблюдается рост побегов в длину [2, 9]. Несмотря на то, что в целом при комбинированном использовании регуляторов роста укореняемость растений и среднее количество корней несколько ниже, чем с чистыми ауксинами, для адаптации растений лучшим вариантом является сочетание ауксинов с цитокининами [9,10,11].

В опытах по изучению эффективности использования метода культуры ткани для размножения гиацинтов промышленных сортов (АннаМария, Бисмарк, Блу Джекет, Карнеги, Пирк Перл и Уайт Леди) использовали питательную среду Мурасиге-Скуга (МС) с добавлением регуляторов роста в разных концентрациях и комбинациях. Лучшие результаты были получены на среде МС с добавлением 0,5 мг/л ИУК + 2мг/л БАП: через 150 дней культивирования коэффициент размножения достиг 196,8 штук, а диаметр луковичек – 12 мм [17]. Высокие концентрации ауксинов (до 10 мг/л ИУК) тормозили формирование луковичек и вызывали некроз исходных эксплантов.

В Белорусском ботаническом саду при культивировании гиацинта в условиях *in vitro* образование побегов и луковиц было нестабильным. Поскольку у гиацинта регенерационные процессы происходят в основании луковиц и стимулируются введением в питательную среду цитокининов и ауксинов, то необходим подбор оптимального соотношения БАП, ИУК и ИМК. Максимальное количество регенерантов (10±2,0 шт./эксплант) было получено на среде с 1 мг/л БАП и 0,1 мг/л ИМК [8].

При культивировании незрелых эмбрионов эндемичного вида Турции *Muscari azureum* использовали среду, которая индуцировала каллусогенез и содержала 2 мг/л 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты; эмбриогенный каллус переносили на среду для индуцирования микролуковичек, содержащую различные концентрации и комбинации БАП, кинетина, зеатина, ИУК, НУК. В результате получали большое количество луковичек (более 13 луковичек с одного зародыша) через 5–6 месяцев культивирования [11].

Другие исследователи использовали при культивировании мускари 6-бензиладенин и ИМК в различных концентрациях. Увеличение числа сформировавшихся микролуковичек требовало присутствия как ИМК (0,2 – 2,0 мг/л), так и 6–бензиладенина (1,0–2,0 мг/л). При

этом размеры образующихся микролуковичек зависели от концентрации ауксинов в среде: ее повышение привело к пропорциональному увеличению диаметра микролуковичек. Ауксин стимулировал развитие и удлинение листьев у вновь сформировавшихся луковичек, а также стимулировал формирование каллуса и корня, но лишь слегка затрагивал формирование микролуковичек n [19]. Применение 6–бензиладенина вместе с ауксином индуцировал дифференциацию луковичек, но при этом замедлялись процессы роста и корнеобразования. Концентрация 2 мг/л ИМК нейтрализовала задержку роста, вызванную цитокинином, и вызывала увеличение диаметра луковичек, одновременно способствуя их дифференциации [12, 13]. При изучении клонального размножения *Muscari mirum* самый большой процент формирования луковиц (23,5 %) был получен на эксплантах, культивируемых на среде МС с включением 4,0 мг/л 6-БАП и 0,25 мг/л НУК [15].

При клональном размножении лилий для формирования максимального числа микролуковичек необходимо вносить в среду 0,5 мг/л БАП + 1,5 мг/л НУК, тогда как для формирования луковичек максимального размера – 0,5 мг/л БАП + 0,5 мг/л 2,4-Д [5]. У гладиолусов для получения максимального числа побегов и наибольшей их длины в среду МС необходимо вносить 1,5 мг/л БАП [6].

Таким образом, при размножении растений *in vitro* необходимо учитывать особенности физиологического состояния растительного организма, которые оказывают влияние на эффективность экзогенных регуляторов роста.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе. – М. : ФБК-ПРЕСС, 1999. – 160 с.
2. Висящева Л.В., Соколова Т.А. Промышленное цветоводство. – М.: Агропромиздат, 1991. – 386 с.
3. Козицкий Ю.Н., Борукаева М.Ф., Смирнова Н.С. Регуляторы роста и микроразмножение цветочных культур // Цветоводство. – 1980. – №2. – С. 13-15.
4. Мазур А.М., Калашникова Е.А. Клональное микроразмножение ценных гибридов лилий // Сельскохозяйственная биотехнология. Избранные работы.– М.: Евразия, 2000.– С. 126-149.
5. Мокшин Е.В., Лукаткин А.С. Масс-клональное размножение ценных гибридов лилий // Вістнік Харківського національного аграрного університету. Серія «Біологія». – 2002. – №9(1). – С. 77-81.
6. Мокшин Е.В., Лукаткин А.С. Масс-клональное размножение гладиолуса *in vitro* // Биотехнология. – 2005. – №1. – С. 19-26.

7. Мокшин Е.В., Лукаткин А.С. Культура клеток и тканей растений: учеб. пособие.– Саранск: Изд-во Мордовского ун-та, 2012. – 104 с.
8. Попович Е.А. Использование бензиладенина для микроразмножения гиацинта восточного // Регуляция роста, развития и продуктивности растений. – Минск, 1999. – С. 87-88.
9. Родин А.Р., Калашникова Е.А. Получение посадочного материала древесных, цветочных и травянистых растений с использованием методов биотехнологии. – М.: МГУЛ, 2004. – 84 с.
10. Сельскохозяйственная биотехнология: Учеб. / В.С. Шевелуха, Е.А. Калашникова, Е.С. Воронин [и др.]. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Высшая школа, 2003. – 469 с.
11. Сидорович Е.А., Кутас Е.Н. Клональное микроразмножение новых плодово-ягодных растений. – Минск: Наука и техника, 1996. – 242 с.
12. Azad A.K.A., Amin M.N. Effects of Hormonal and Basal Nutrient Medium on In vitro Regeneration of an Ornamental Plant – *Muscari armeniacum* Leichtlin. ex Baker // Plant Tissue Cult. & Biotech. – 2012. – V. 22, №2. – P. 113-126.
13. Mori S., Nakano M. Somatic embryo induction from leaf- and flower bud-derivied calli in several *Muscari* species and cultivars // Propag. Ornamen. Plants. – 2004. – V. 4. – P. 58-62.
14. Mujlib A., Banerjee S., Ghosh P.D. Origin, development and structure of somatic embryos in selected bulbous ornamentals: BAP as inducer // Plant Cell Monographs. – 2005. – V. 2. – P. 15-24.
15. Nasircilar A.G., Mirici S., Karaguzel O., Eren O., Baktir I. *In vitro* propagation of endemic and endangered *Muscari mirum* from different explants types // Turk J. Bot. – 2011. – V. 35. – P. 37-43.
16. Pierik R.L.M., Steagman H.H.M. Effect of auxins, cytokinins, gibberellins, abscisic acid and ethephon on regeneration and growth of bulblets on exicised bulb scale segments of hyacinths / R. L. M. Pierik // Physiologia Plantarum. – 1975. – V. 34. – P. 14-17.
17. Salehzadeh Sh., Daneshvar M.H., Moallemi N. Indirect Organogenesis from Scale, Leaf Primordia and Immature Floret Explants of *Hyacinth* (*Hyacinthus orientalis* L.) // American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci. – 2008. – V. 4, № 5. – P. 640-645.
18. Uranbey S. *In vitro* bulblet regeneration from immature embryos of *Muscari azureum* // African Journal of Biotechnology. – 2010. – Vol. 9, №32. – P. 5121-5125.
19. Uranbey S. Stimulating Effects of different basal media and cytokinin types on regeneration of endemic and endangered *Muscari aucheri* // Arch. Biol. Sci., Belgrade. – 2010. – V. 62. – P. 663-667.