(cc) BY

Торутанов Павел Сергеевич
магистрант
Масленников Андрей Викторович
канд. биол. наук, доцент, профессор
ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный
педагогический университет им. И.Н. Ульянова»
г. Ульяновск, Ульяновская область

ОСОБЕННОСТИ МИКРОКЛОНАЛЬНОГО РАЗМНОЖЕНИЯ РЕДКОГО И ОХРАНЯЕМОГО ВИДА – ЛЕВКОЯ ДУШИСТОГО (MATTHIOLA FRAGRANS BUNGE)

Аннотация*: в статье описывается микроклональное размножение редкого и охраняемого в Российской Федерации вида растения – левкоя душистого (Matthiola fragrans Bunge). Подчеркивается, что ценным является получение в условиях in vitro растений, генетически идентичных материнской особи. Отмечаются особенности микроклонального размножения левкоя душистого из семенных и побеговых эксплантов.*

Ключевые слова*: микроклональное размножение, in vitro, каллусные культуры, левкой душистый (Matthiola fragrans Bunge).*

Сохранение многих видов редких растений в природе часто затруднено из-за слабой приживаемости проростков и молодых растений, низкой всхожести их семян, высокой поражаемости растений бактериальными, вирусными и грибковыми заболеваниями. Поэтому для редких и охраняемых видов растений, нужен поиск методов их ускоренного размножения для возврата в природные сообщества для успешного восстановления их популяций. Одним из путей решения проблемы могут быть биотехнологические методы, позволяющие провести микроклонирование, тиражирование редких и исчезающих видов в культуре *in vitro* [1, с. 12].

Одним из направлений микроклонирования растений является массовое размножение редких и охраняемых видов растений-микроклонов, генетически

Content is licensed under the Creative Commons Attribution 4.0 license (CC-BY 4.0)

идентичных материнским особям, для создания коллекции микроклонов редких и эндемичных видов растений [2, с. 7]. В дальнейшем при их акклиматизации к природным условиям возможна их интродукция и реинтродукция в природные экосистемы для сохранения природного разнообразия генофонда популяций данных редких охраняемых видов.

С биологической точки зрения клональное микроразмножение – очень сложный процесс, на который влияют разнообразные факторы: свойства самого растения, состав питательной среды, освещение, температура и др. [6, с. 12]. Поэтому для каждого вида растений всегда необходимо подбирать свою индивидуальную методику культивирования, свой протокол культивирования для непрерывного получения новых молодых растений-регенерантов [2, с. 58].

При микроклонировании и культивировании микроклонов выделяют четыре этапа микроклонального размножения [4, с. 37]: 1. Введение в культуру in vitro – выбор растения донора, изолирование и стерилизация, высадка на питательную среду и получение хорошо растущей стерильной культуры. 2. Собственно микроразмножение – достигается получение максимального количества меристематических клонов. 3. Укоренение микропобегов с последующей адаптацией их к почвенным условиям. 4. Адаптация растений к условиям *in vitro* (перенос растений в субстрат и климокамеру или в условия теплицы и подготовка их к посадке в поле).

При микроклонировании с использованием общепринятых методик стремятся получить каллусные культуры. Как отмечается в классическом пособии по биотехнологии растений, основным типом культивируемой растительной клетки является каллусная [6, с. 98]. Однако до настоящего времени однозначного определения каллуса нет. По Доддсу и Робертсу (1985) [3, с. 71], каллус – неорганизованная меристематическая или опухолеподобная масса растительных клеток, формирующихся *in vitro*.

Как полагает Т.Б. Батыгина (1987) [6, с. 102], каллус – гетерогенная интегрированная структура, образующаяся в результате пролиферации клеток на поверхности отдельных структур растительного организма. Для растений каллус

Содержимое доступно по лицензии Creative Commons Attribution 4.0 license (CC-BY 4.0)

является тканью, возникающей в исключительных обстоятельствах (обычно при травмах) и функционирующей непродолжительное время [4, с. 92].

В качестве объекта микроклонирования было выбрано редкое, исчезающее и охраняемое в Российской Федерации растение, нуждающееся в восстановлении природных популяций – левкой душистый (*Matthiola fragrans* Bunge) [5, с. 79].

Этот травянистый стержнекорневой многолетник с густо облиственными в нижней части стеблями является облигатным кальцефилом и эрозиофилом и растет в Ульяновской области по меловым обнажениям, реже – в каменистых разнотравных степях по крутым склонам южной и юго-западной экспозиции в немногих пунктах Ульяновского Предволжья [5, с. 80]. Исчезает из сообществ каменистых степей при интенсивных антропогенных нагрузках и при их зарастании степными дерновинными злаками [5, с. 80].

При составлении протокола размножения путём клонирования *in vitro* установлено, что лучше всего стерилизовать семена левкоя душистого в 5% растворе гидрохлорида натрия в течение 16 минут, а затем высаживать в условиях климатической камеры при температуре +26ºС – +30ºС и фотопериоде 16 часов свет + 8 часов темнота.

Оптимальнее всего культивировать семена на твердой агаризованной питательной безгормональной среде Мурасиге-Скуга (MS).

При таком способе высева семян и их культивировании семена левкоя прорастают через 7–8 суток при +26ºС – +29ºС на свету, и всхожесть семян в лабораторных условиях, в среднем, составляет 80%, что показывает хорошую возможность выращивания и размножения этого редкого вида в условиях *in vitro*.

Вторая часть семян также была выращена на твердой агаризованной питательной безгормональной среде Мурасиге-Скуга (MS) в условиях естественного освещения. Их всхожесть была гораздо ниже – в среднем 30%, что показывает предпочтительность выращивание семенных эксплантов левкоя при искусственном освещении.

Content is licensed under the Creative Commons Attribution 4.0 license (CC-BY 4.0)

Через три недели выросшие на безгормональной среде Мурасиге-Скуга молодые растения левкоя душистого имели хорошо развитую корневую систему и побеги с одним узлом настоящих листьев.

В ходе работы при дальнейшем развитии семенных эксплантов было получено в среднем 25,5% проростков, у которых в области корневой шейки было отмечено образование каллуса.

Морфолого-анатомическое исследование формирующихся каллусов *Matthiola fragrans* показало, что каллусы образуются рыхлые белого или беловато-желтоватого цвета, клетки каллуса имеют хорошо развитые крупные ядра и образуют в каллусной ткани отдельные очаги меристематической активности, что показывает возможность размножения левкоя душистого путем микроклонирования через каллусную культуру.

Проведенная посадка побеговых эксплантов левкоя душистого, на агаризованную питательную среду Мурасиге-Скуга (MS) с гормонами ауксинами и цитокининами для каллусообразвания (2 пассаж) показала отсутствие каллусогенеза, но возможность появления новых листьев и пазушных почек, т.е. возможность протекания морфогенеза и дальнейшего развития побеговых эксплантов данного вида.

Таким образом, подводя итоги, можно сделать вывод, что редкий и охраняемый вид – левкой душистый можно размножать методами микроклонирования как через каллусную культуру, так и путем прямого морфогенеза его побеговых эксплантов на агаризованной универсальной питательной среде Мурасиге-Скуга.

Список литературы

1. Бирюков В.С. Основы промышленной биотехнологии [Текст] / В.С. Бирюков. – М.: КолосС, Химия, 2004. – 296 с.

2. Егорова Т.А. Основы биотехнологии [Текст] / Т.А. Егорова, С.М. Клунова, Е.А. Живухина. – М.: Академия, 2006. – 207 с.

Содержимое доступно по лицензии Creative Commons Attribution 4.0 license (CC-BY 4.0)

3. Культура клеток растений [Текст] / под ред. Р.Г. Бутенко. – М.: Наука, 1991. – 166 с.

4. Культура клеток растений и биотехнология [Текст] / под ред. Р.Г. Бутенко. – М.: Наука, 1986. – 179 с.

5. Масленников А.В. Левкой душистый – Matthiola fragrans Bunge [Текст] / А.В. Масленников // Красная книга Ульяновской области. – М.: Буки Веди, 2015. – С. 79–80.

6. Сельскохозяйственная биотехнология [Текст] / под ред. В.С. Шевелухи. – 3-е издание. – М.: Высшая школа, 2008. – 710 с.

Content is licensed under the Creative Commons Attribution 4.0 license (CC-BY 4.0)