

Масленников Андрей Викторович

канд. биол. наук, доцент, профессор

ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный

педагогический университет им. И.Н. Ульянова»

Масленникова Людмила Анатольевна

канд. биол. наук, доцент, профессор

ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный

педагогический университет им. И.Н. Ульянова»

Торутанов Павел Сергеевич

младший научный сотрудник

Научно-исследовательский центр фундаментальных

и прикладных проблем биоэкологии и биотехнологии

ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный

педагогический университет им. И.Н. Ульянова»

Епимахова Карина Андреевна

магистрант

ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный

педагогический университет им. И.Н. Ульянова»

г. Ульяновск, Ульяновская область

DOI 10.31483/r-139098

РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ МИКРОКЛОНИРОВАНИЯ ХОЗЯЙСТВЕННО ЗНАЧИМОГО ДЕКОРАТИВНОГО ВИДА КОРДИЛИНЫ КУСТАРНИКОВОЙ (CORDYLINE FRUTICOSA (L.) A. CHEV)

Аннотация: в статье рассматриваются подходы к разработке методики микроклонального размножения практически значимого декоративного вида кордилины кустарниковой (*Cordyline fruticosa (L.) A. Chev*) *in vitro*. Работы по отработке методики получения каллусной культуры кордилины успешно проведены в 2024–2025 годах. Из разных видов побеговых эксплантов: верхушеч-

ных, стеблевых и корневищных получены каллусные культуры и молодые растения-регенеранты.

Ключевые слова: кордилина кустарниковая, микроклонирование, *in vitro*, фитогормоны, биотехнологические методы, каллус, среда Мурасиге-Скуга.

В последние десятилетия микроклональное размножение растений активно развивается как одно из наиболее перспективных направлений в современной биотехнологии [1, с. 28]. Данный метод позволяет в условиях стерильной среды получать большое количество жизнеспособных, генетически однородных и оздоровлённых растений, что особенно важно для декоративных культур, обладающих высокой коммерческой ценностью [3, с. 69].

Одной из таких культур является декоративная кордилина кустарниковая (*Cordyline fruticosa* (L.) A. Chev) – тропическое растение, характеризующееся привлекательным внешним видом, широким спектром окраски листьев и устойчивостью к условиям помещений [4, с. 76]. Однако традиционные способы её размножения, в частности, вегетативное деление или укоренение черенков, зачастую сопряжены с низким коэффициентом размножения, длительными сроками укоренения, а также высокой вероятностью инфицирования посадочного материала патогенами [6, с. 91; 7, с. 14]. Учитывая это, применение методов микроклонирования предоставляет неоспоримые преимущества, позволяя интенсифицировать производство качественного посадочного материала, повысить эффективность и массовость размножения и обеспечить стабильное воспроизводство культуры [2, с. 24].

Результаты, полученные в ходе выполнения исследования, обладают практической значимостью, так как могут быть внедрены в биотехнологические лаборатории, тепличные комплексы и специализированные питомники для создания высокоэффективной технологии размножения *Cordyline fruticosa*.

Главной целью нашего исследования было изучение возможности микроклонального размножения кордилины кустарниковой (*Cordyline fruticosa* (L.) A. Chev) *in vitro* для нужд комнатного цветоводства. Для этого были выяснены

2 <https://phsreda.com>

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

возможности микроклонального размножения кордилины при помощи разных видов эксплантов в условиях *in vitro*, и был разработан и оптимизирован протокол культивирования и непрерывного получения регенерантов кордилины кустарниковой в стерильных условиях.

Опыт микроклонального размножения и культивирования растений прошлых лет [5, с. 51] помог подобрать условия культивирования и выращивания разных типов побеговых эксплантов кордилины: верхушечных, стеблевых и корневищных на твердых агаризованных средах.

Для отработки протокола микроклонального размножения *in vitro* простерилизованные в 5% гипохлорите натрия верхушечные, стеблевые и корневищные экспланты кордилины были высажены в условиях климатической камеры при температуре +26°C и фотопериоде 16 часов свет + 8 часов темнота. Побеговые экспланты культивировались на твердой агаризованной питательной полной гормональной среде Мурасиге-Скуга (MS).

Процесс микроклонального размножения *Cordyline fruticosa* в лабораторных условиях был разделён на несколько последовательных стадий: от отбора и стерилизации эксплантов до акклиматизации регенерированных растений. В ходе исследования были проведены многократные циклы субкультивирования, что позволило получить репрезентативные данные по эффективности каждого этапа.

На первой стадии были отобраны и стерилизованы верхушечные, стеблевые и корневищные экспланты кордилины, после чего их помещали на питательную среду Мурасиге и Скуга, модифицированную добавлением регуляторов роста. Отбор материала производился из вегетативно активных растений, выращенных в комнатных условиях, что обеспечивало стабильные показатели роста и развития. Стерилизация эксплантов проводилась с учётом особенностей анатомического строения, включая плотность эпидермиса и наличие воскового налёта, которые могли препятствовать проникновению дезинфицирующих веществ. При использовании среды с содержанием 2 мг/л БАП и 2 мг/л ИУК было отмечено успешное пробуждение меристем и начальная пролиферация побегов.

Уже через 14 дней наблюдалась реакция тканей: появление светло-зелёных уплотнений в зоне апекса, свидетельствующих о начале дифференцировки. По прошествии 25 дней на эксплантах формировались зародыши побегов, которые далее активно развивались в течение трёх недель, увеличивая в среднем свою длину на 1–3 мм каждые 7 дней.

На втором этапе была проведена процедура микрочеренкования. В асептических условиях проросшие растения разделили на 2–3 микрочеренка. После чего поместили на свежую питательную среду Мурасиге и Скуга такого же состава.

Кроме того, для дополнительной стимуляции каллусообразования были нанесены насечки. Это способствовало индукции множественных побегов из одной точки роста за счёт активации латентных меристем.

На заключительной стадии образцы опять подверглись замене питательной среды Мурасиге и Скуга во избежание ее истощения и накопления в ней продуктов жизнедеятельности, угнетающих процесс каллусообразования. В этот раз пересадке подверглись не все экспланты, а только лишь те у которых сформировался каллус.

Для пересадки каллусных тканей выбрали наиболее подходящие образцы и вычленили, соответственно, каллусное образование. Данное образование характеризовалось беловато-желтоватым цветом и аморфной формой с неопределенной анатомической структурой (рис. 1).



Рис. 1. Образованный каллус на побеговом экспланте кордилины

После пересадки каллусные образования демонстрировали высокий уровень адаптации к условиям среды и сохраняли стабильный ростовой потенциал. По прошествии 25 дней каллус дал проростки, что говорит об успешном завершении эксперимента.

В ходе исследования было установлено, что успех микроклонального размножения *Cordyline fruticosa* в значительной степени зависит от количественного и качественного состава питательной среды, а также от соотношения фитогормонов, регулирующих процессы морфогенеза. Эти параметры оказывают непосредственное влияние на клеточную дифференцировку, активацию меристематических зон, а также морфогенетический отклик эксплантов на различных стадиях культивирования. Особое внимание было уделено оптимизации концентраций ауксинов (ИУК) и цитокининов (БАП), которые являются ключевыми факторами, влияющими на индукцию морфогенеза, усиление клеточной делимости и активацию путей регенерации побегов и корней.

В результате эксперимента было определено, что добавление в питательную среду MS повышенной концентрации фитогормонов: 2 мг/л БАП и 2 мг/л ИУК способствует эффективной инициации морфогенеза. Такой состав среды стимулировал пробуждение апикальных меристем, усиливал митотическую активность в зоне апекса и приводил к формированию первичных побегов в течение первых 12–14 дней культивирования. В конце культивирования формировались прямостоячие, хорошо структурированные побеги с выраженной апикальной доминантой, что позволяло прогнозировать их дальнейшую регенерационную способность. Наблюдалось одновременное увеличение плотности клеточной ткани и скорости деления клеток в зоне экспланта.

Сравнительный анализ с литературными источниками подтвердил полученные результаты, позволив установить определённые закономерности в реакциях различных видов на вариации в гормональном составе среды. Например, *Cordyline terminalis*, описанная в работе 2021 года S. Liu et al [8, с. 101], показала схожие реакции на добавление цитокининов. В частности, БАП в концентра-

ции 1,0 мг/л вызывал усиленную пролиферацию побегов. Однако у этого вида отмечалась меньшая чувствительность к изменению концентраций, и её морфогенетический отклик на высокие дозы БАП был менее выраженным, чем у *Cordyline fruticosa*, где наблюдалось быстрое формирование каллусной ткани и морфологических аномалий побегов (табл. 1).

Таблица 1

Сравнительный анализ микроклонального размножения *Cordyline fruticosa* и *C. Terminalis*

Показатель	<i>Cordyline fruticosa</i> (настоящее исследование)	<i>Cordyline terminalis</i> (S. Liu et al., 2021)
Оптимальная концентрация БАП	2 мг/л	1,0 мг/л
Оптимальная концентрация ИУК	2 мг/л	0,3 мг/л
Среднее число побегов на экспланта	5	4,3
Образование каллуса	Выраженное	Незначительное

Обобщая представленные данные, можно с уверенностью утверждать, что оптимизация фитогормонального баланса является одним из ключевых факторов, определяющих успешность всего процесса клонирования *Cordyline fruticosa*. Она напрямую влияет не только на эффективность стадий регенерации и укоренения, но и на последующую акклиматизацию растений, их физиологическую стабильность и потенциальную жизнеспособность в условиях *ex vitro*.

В целом, полученные данные могут служить основой для внедрения протокола микроклонального размножения *Cordyline fruticosa* в деятельность тепличных хозяйств, ландшафтных и ботанических центров, а также лабораторий, специализирующихся на биотехнологическом размножении ценных декоративных растений.

Список литературы

1. Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнология на их основе / Р.Г. Бутенко. – М.: ФБК-Пресс, 1999. – 160 с.

-
2. Дитченко Т.И. Культура клеток, тканей и органов растений / Т.И. Дитченко. – Минск: БГУ, 2007. – 102 с. EDN TKVDIB
3. Егорова Т.А. Основы биотехнологии: учеб. пособ. для вузов по спец. «Биология» / Т.А. Егорова, С.М. Клунова. – М.: Академия, 2003. – 207 с.
4. Захарченко В.Р. Зимний сад в квартире, доме, офисе / В.Р. Захарченко. – М.: Центрполиграф, 2010. – 254 с. EDN QNOMIV
5. Масленников А.В. Перспективный и хозяйственно ценный вид спилантес огородный (*Acmella oleracea* (L.) R.K. Jansen) как объект клеточных технологий / А.В. Масленников, Л.А. Масленникова // Фундаментальные и прикладные исследования по приоритетным направлениям биоэкологии и биотехнологии: материалы IV Всерос. науч.-практич. конф. (Ульяновск, 20 мая 2021 г.) / редкол.: Е.И. Антонова [и др.]. – Чебоксары: Среда, 2021. – С. 49–55. DOI 10.31483/r-98665. EDN VGBTBV
6. Сааков С.Г. Оранжерейные и комнатные растения и уход за ними / С.Г. Сааков. – Л.: Наука, 1983. – 621 с.
7. Сельскохозяйственная биотехнология / под ред. В.С. Шевелухи. – М., 2003. – 416 с.
8. Liu S. Micropropagation of *Cordyline terminalis* using apical meristem: effects of plant growth regulators and activated charcoal / S. Liu, L. Huang, Y. Zhang, Q. Chen. Journal of Tropical Horticulture. 2021. Vol. 60 (2). Pp. 97–104.