

УДК 582.623.2

**СОРТОВЫЕ ОСОБЕННОСТИ РИЗОГЕНЕЗА
МИКРОЧЕРЕНКОВ КЛЕМАТИСА**

Хорошкова Юлия Викторовна

аспирант

Кирина Ирина Борисовна

кандидат сельскохозяйственных наук, заведующий кафедрой

rodina1947@mail.ru

Муратова Светлана Александровна

кандидат биологических наук, профессор

Акимова Кристина Сергеевна

студент

Мичуринский государственный аграрный университет

г. Мичуринск, Россия

Аннотация. Потребность в качественном посадочном материале огромного количества видов и сортов декоративных культур требует привлечения современных эффективных технологий размножения растений, таких как клональное микроразмножение. В результате исследований выявлены особенности укоренения микрочеренков разных сортов клематиса. Установлено, что в большинстве случаев на этапе укоренения клематиса целесообразно использовать относительно невысокие концентрации ауксинов: 0,25-0,5 мг/л ИМК и 0,5-1,0 мг/л ИУК. Эффективным способом укоренения может быть выдерживание микрочеренков в течение суток в растворе ИМК (50 мг/л) и высадка их на безгормональную среду.

Ключевые слова: клематис, ризогенез, питательная среда.

Потребность в качественном посадочном материале огромного количества видов и сортов декоративных культур требует привлечения современных эффективных технологий размножения растений, таких как клональное микроразмножение.

Важнейшим этапом клонального микроразмножения, во многом определяющим его эффективность, является укоренение полученных *invitro* микропобегов. Формирование качественной корневой системы и развитых побегов при культивировании микрорастений во многом является залогом успешного прохождения микрорастениями этапа адаптации и последующего быстрого развития [15].

Процесс корнеобразования – это последовательность различных биохимических и физиологических событий. Какой бы способ укоренения не использовался, процесс адвентивного корнеобразования включает несколько этапов: индукцию, инициацию, появление корней за пределами побеговой части микрочеренка [8]. Интенсивность корнеобразования зависит от генома растений и условий укоренения микрочеренков [2-7, 9-11, 13, 15, 17-19]. Первостепенное значение в индукции ризогенеза отводится регуляторам роста – ауксинам, а именно, типу, концентрации и способу обработки микрочеренков [2-7, 10, 11, 17, 18].

Существует несколько основных методик укоренения и последующей адаптации растений. Чаще всего для укоренения микрочеренков их высаживают на питательные среды, содержащие ауксины, с последующей пересадкой укорененных растений в теплицу для дальнейшей адаптации. В качестве индукторов ризогенеза садовых культур наиболее широко используются такие ауксины как β -индолилмасляная (ИМК), β -индолилуксусная (ИУК) и α -нафтилуксусная (НУК) кислоты [2-7, 10, 17, 18]. Совместное применение ИМК и ИУК в концентрации по 0,5 мг/л оказалось наиболее эффективным для укоренения различных сортов клематисов [11]. Установлена зависимость процесса корнеобразования от генотипа, минерального и углеводного состава среды, ее консистенции, веществ

фенольной природы, светового и температурного режима, длины укореняемых побегов и других факторов [4, 7, 12, 13]. Так, для некоторых сортов клематиса эффективным оказался прием выдерживания микропобегов в темноте непродолжительное время (3 суток) с последующим возвратом на обычный световой режим. Ризогенез в данном случае составлял от 75 до 100%, причем качество корней также было лучше [1].

Для многих декоративных культур метод клонального микроразмножения разработан достаточно эффективно. Однако в связи с огромным количеством форм декоративных растений уже разработанные технологии культивирования не всегда приемлемы и требуют постоянного совершенствования и корректировки, что опосредует необходимость опытного определения наилучших условий культивирования, особенно на критическом для многих растений этапе ризогенеза [4]. Для ряда культур показана исходно трудная укореняемость и низкая скорость роста побегов на этапе ризогенеза, эти культуры требуют дополнительных стимулирующих факторов воздействия [13-15, 20, 21].

Хорошее развитие корневой обеспечивает практически 100% приживаемость и большой прирост побегов на этапе адаптации, поскольку лучшее развитие корневой системы способствует более быстрой адаптации растений к почвенным условиям. Поэтому так важно для каждого вида растений подобрать оптимальный состав среды укоренения, обеспечивающий хорошее развитие корневой системы без образования значительного количества каллуса.

Цель нашей работы: определить наиболее эффективные индукторы ризогенеза и их концентрации, обеспечивающие высокую частоту ризогенеза и формирование качественной корневой системы для включенных в исследования сортов клематиса.

Материалы и методы исследований. Научные исследования выполнены на базе учебно-исследовательской лаборатории биотехнологии Мичуринского ГАУ.

В качестве растительного материала использованы перспективные для производственного размножения сорта клематиса: Принцесса Диана, Лютер Бербанк, Blueirouette, Purpurea Plena Elegans,

Для культивирования растений *in vitro* на этапе укоренения использовали минеральную основу питательной среды Мурасиге-Скуга (Murashige, Skoog, 1962) [22] со сниженной вдвое концентрацией макросолей, дополненную мезоинозитолом – 50 мг/л, пиридоксином HCl – 0,5 мг/л, никотиновой кислотой – 0,5 мг/л, тиамином HCl – 0,4 мг/л, агаром – 8 г/л и сахарозой – 20 г/л. В среду добавляли ауксины: β -индолил-3-масляную кислоту (ИМК) и β -индолилуксусную кислоту (ИУК) в концентрации 0,1-1,0 мг/л.

pH питательной среды в процессе приготовления устанавливали в пределах 5,6-5,8 с помощью децинормального раствора NaOH. Среда стерилизовали автоклавированием (1 атм., 20 мин.). Витамины и регуляторы роста растений стерилизовали фильтрованием и добавляли после автоклавирования (“Millipore” 0,22 μ m, France).

Субкультивирование побегов осуществляли в широкогорлых круглых и конических колбах емкостью 250мл с 80 мл среды. Колбы закрывали тонкой алюминиевой фольгой и герметизировали лентой “Parafilm”.

Культивирование растений осуществляли в специально оборудованной культуральной комнате при 16-часовом световом дне с освещенностью 2000-2500 люкс (люминесцентные лампы Osram L36W/765 CoolDaylight), температуре воздуха $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

Учет результатов производили с периодичностью 1 раз в 7 дней. Учитывали число укоренившихся побегов, число и длину корней на укорененный микрочеренок, длину побегов. На каждый вариант опыта брали по 25-30 эксплантов. Повторность опытов трехкратная. Статистическую обработку данных проводили с использованием программы Microsoft Excel.

Результаты и их анализ.

Известно, что эффективность укоренения микрочеренков *in vitro* во многом определяется биологической предрасположенностью изучаемых

генотипов к вегетативному размножению. Для стимуляции ризогенеза декоративных культур ауксины часто используют в относительно небольших концентрациях, так как высокие концентрации ауксинов в среде могут стимулировать каллусогенез.

В наших исследованиях изучено действие ауксинов ИМК и ИУК на процесс укоренения микрочеренков разных видов и сортов клематиса.

Применение ИУК было эффективным при укоренении клематиса. У ряда сортов, например, сорта Принцесса Диана на средах с этим ауксином сформировалась мощная корневая система и корни росли быстрее чем на средах с ИМК. Максимальная частота укоренения (95-98%) получена при концентрации ИУК в среде 0,4 мг/л.

В целом, степень развития корневой системы определялась, прежде всего, биологической предрасположенностью сорта к вегетативному размножению. Для большинства форм клематиса в культуре *invitro* характерно образование длинных толстых корней. При этом ряд сортов хорошо укоренялось и на средах без регуляторов роста. Например, анализ динамики ризогенеза сорта Blueperiouette при использовании различных концентраций фитогормонов показывает, что быстрее всего корни у этой формы растут на среде MS_{ук} без гормонов. Процесс образования корней начинается через 2,5-3 недели культивирования. Через 3-4 недели начинается укоренение на средах с добавлением 0,2 - 0,5 мг/л ИМК.

Для других сортов требовалось применение индукторов ризогенеза и подбор их оптимальных концентраций и способов воздействия. С высокой частотой практически во всех вариантах опыта укоренялся сорт Inspiration Zoin, тогда как, эффективность укоренения сорта Лютер Бербанк не превышала 50% даже на средах с ауксинами.

У сорта Purpurea Plena Elegans максимальная эффективность ризогенеза была достигнута на средах с 0,25 и 0,5 мг/л ИМК (рис. 1). Дальнейшее повышение концентрации ауксина в питательной среде не вело к повышению частоты ризогенеза, снижало количество корней на укорененный микрочеренок

(рис. 2) и замедляло рост корней. Анализ динамики ризогенеза при использовании различных концентраций фитогормонов показывает, что быстрее всего корни у клематиса растут на среде $MS_{ук}$ без гормонов. В этом случае процесс образования корней начинается через 2,5-3 недели культивирования. Через 3-4 недели начинается укоренение на средах с добавлением ИМК в концентрациях 0,25-0,5 мг/л, еще позже - с добавлением ИУК.

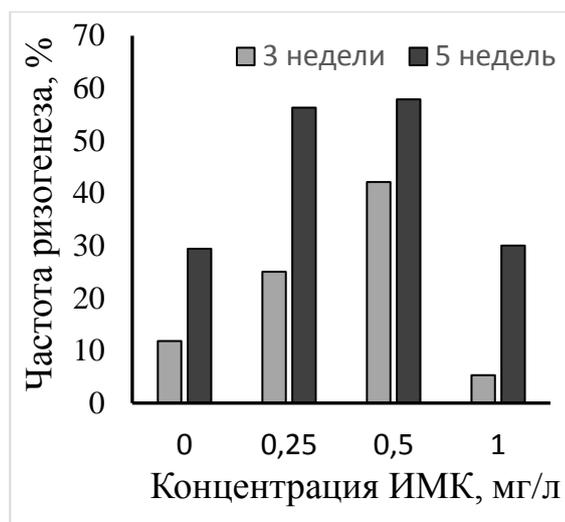


Рисунок 1 - Эффективность укоренения клематиса сорта *Purpurea Plena Elegans* при разной концентрации ауксина

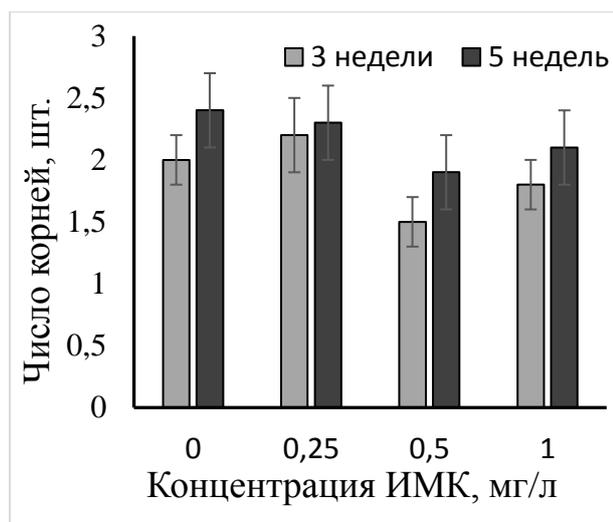


Рисунок 2 - Число корней на укорененный микрочеренок клематиса сорта *Purpurea Plena Elegans* при разной концентрации ауксина

Существенным образом на эффективность ризогенеза повлиял способ введения ауксина – индуктора ризогенеза в микрочеренки. При укоренении микропобегов клематиса на безгормональной среде после их выдерживания в течение суток в растворе ИМК (50 мг/л) итоговая частота ризогенеза повысилась на 14,3% по отношению к лучшему варианту среды с ауксином. Значительно ускорился процесс ризогенеза и увеличилось среднее число корней на укорененный микрочеренок с 2,4 шт. до 3,1 шт. (рис. 3.).

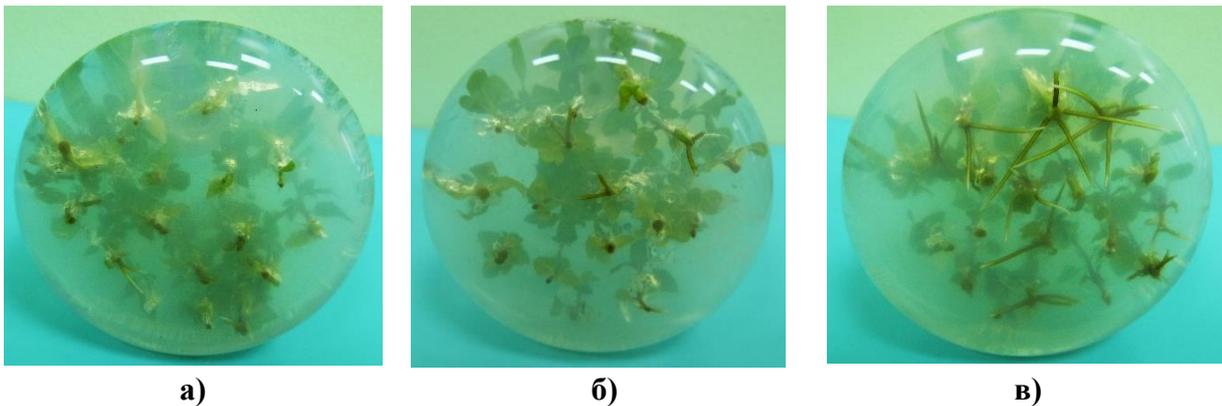


Рисунок 3 - Укоренение клематиса сорта PurpureaPlenaElegans на среде MS_{ук}: а-контроль без гормонов; б- 0,25 мг/л ИМК в среде; в-раствор ИМК 50 мг/л, 24 ч

Таким образом, в результате наших исследований выявлены особенности укоренения микрочеренков разных сортов клематиса. Показано, что для эффективного ризогенеза каждого сорта необходимо использовать установленную концентрацию экзогенного ауксина в составе питательной среды. Установлено, что в большинстве случаев на этапе укоренения клематиса целесообразно использовать относительно невысокие концентрации ауксинов: 0,25-0,5 мг/л ИМК и 0,5-1,0 мг/л ИУК. Эффективным способом укоренения может быть выдерживание микрочеренков в течение суток в растворе ИМК (50 мг/л) и высадка их на безгормональную среду.

Список литературы:

1. Блюднева, Е. А. Использование клонального микроразмножения для массового получения посадочного материала декоративных и плодово-ягодных культур в ботаническом саду СГУ / Е. А. Блюднева, Т. А. Крицкая, А. С. Кашин // Бюллетень Ботанического сада Саратовского государственного университета. Выпуск 11. - 2013. - С.119-131.
2. Ботаника: лечебное садоводство: учебное пособие / И.Б. Кирина, И.А. Иванова, Н.С. Самигуллина. - Москва: Изд-во Юрайт, 2019. - Сер. 68 Профессиональное образование (2-е изд.). - 164 с.
3. Бородулина, И.Д. Влияние ауксинов на ризогенез сортов Актинидии коломикта в культуре in vitro / И.Д. Бородулина, Т.В. Плаксина // ActaBiologicaSibirica – 2016. - Т.2 (4). - С. 102–109.

4. Деменко, В.И. Укоренение – ключевой этап размножения растений *in vitro* / В.И. Деменко, К.А. Шестибратов, В.Г. Лебедев // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. – 2010. – № 1. – С.73-85.
5. Егорова, Н.А. Влияние сорта и состава питательной среды на укоренение розы эфиромасличной при микроразмножении *in vitro* / Н.А. Егорова, И.В. Ставцева, И.В. Митрофанова // Биомика. - 2018. - 10 (1). - С. 11-15.
6. Заидан, О.Х. Некоторые аспекты клонального микроразмножения различных сортов роз / О.Х. Заидан, Д.А. Егорова, Л.И. Бумбеева, О.И. Молканова // Сборник научных трудов ГНБС. - 2017. - Том 145. - С. 162-167.
7. Иванова, Н.Н. Методические основы клонального микроразмножения некоторых декоративных культур / Н.Н. Иванова, И.В. Митрофанова, О.В. Митрофанова // Сборник научных трудов ГНБС. - Том 138. - 2014. – С. 57-101.
8. Кефели, В.И. Новые данные об эндогенной регуляции роста растений / В.И. Кефели // Агрехимия. – 1966. – № 7. – С. 127-139.
9. Кирина, И.Б. Лечебное садоводство: учеб. пособие. / И.Б. Кирина, И.А. Иванова, Н.С. Самигуллина. – Мичуринск: Изд-во Мичуринского госагроуниверситета, 2009. – 163 с.
10. Криницына, А.А. Влияние экзогенных ауксинов на заложение и развитие придаточных корней двух сортов сирени в культуре *in vitro* / А.А. Криницына, О.А. Чурикова // Плодоводство и ягодоводство России. – 2018 – Т. 54. – С. 93-96.
11. Коротков, О. И. Особенности укоренения сортовых групп клематисов в зависимости от их происхождения / О. И. Коротков, И. А. Комарова // Сб. материалов IX Региональной конф. молодых исследователей Волгогр. обл. - Волгоград, 2004. - С. 27–28.
12. Ларская, И.А. Ризогенез в культуре *in vitro* и влияние на этот процесс регуляторов углеводной природы / И.А. Ларская, О.И. Трофимова, Т.А. Горшкова // Материалы VII Международной научно-практической

конференции «Биотехнология как инструмент сохранения биоразнообразия растительного мира» (физиолого-биохимические, эмбриологические, генетические и правовые аспекты), г. Ялта, Республика Крым, 25 сентября -1 октября 2016 г. – С. 276-277.

13. Маркова, М.Г. Совершенствование этапа укоренения в клональном микроразмножении малины / М.Г. Маркова, Е.Н. Сомова // Вестник Марийского государственного университета. Серия «Сельскохозяйственные науки. Экономические науки». 2016. - Т.2. - № 2(6). - С. 37-40.

14. Плаксина, Т.В. Влияние ультразвукового облучения на корнеобразование у земляники и вишни / Т.В. Плаксина, О.В. Мочалова, А.Л. Верещагин, В.Н. Хмелев // Ползуновский вестник. - 2011. - № 4-1. - С. 250-254.

15. Папихин, Р.В. Способы получения безвирусных садовых культур / Р.В. Папихин, С.А. Муратова, М.Л. Дубровский, И.Б. Кирина, Е.В. Комарова // Наука и Образование. - 2020. – Т. 3. - № 1. - С.87.

16. Трунов, И.А. Оптимизация условий роста микрорастений садовых культур на этапе адаптации / И.А. Трунов, Ю.В. Хорошкова // Вестник Мичуринского государственного аграрного университета. – 2020 - №1 (60). - С. 90-97.

17. Хорошкова, Ю.В. Влияние ауксинов в составе питательной среды на ризогенез плетистой розы сорта Цезарь / Ю.В. Хорошкова, С.А. Муратова, Н.С. Субботина // Наука и Образование. - 2020. – Т.3. - № 2. - С. 171.

18. Хорошкова, Ю.В. Применение ауксинов в составе питательной среды на этапе ризогенеза микрочеренков ягодных и декоративных культур / Ю.В. Хорошкова, И.А. Трунов, И.Д. Мелехов // Вестник Мичуринского государственного аграрного университета. - 2020. - № 4 (63). - С. 83-91.

19. Kornova, K. Optimizing the rooting process in propagation of kazanlak oil-bearing rose (*Rosa damascena* Mill.) *in vitro* / K. Kornova, J. Michailova // Propagation of Ornamental Plants. - 2008. - V.8. - № 4. - P. 224-229.

20. Muratova, S.A. The research of clonal micropropagation efficiency of *Schisandra chinensis* under the influence of low-intensity coherent radiation. /

S.A. Muratova, A.V. Budagovsky, L.A. Tokhtar, V.K. Tokhtar, L.A. Deineka // Int. Journal of Green Pharmacy. - 2017. - Vol. 11 (3). - P.634-636.

21. Muratova, S.A. The influence of the spectral composition on the root development of ornamental plants *in vitro* / S.A. Muratova, N.S. Subbotina, L.A. Tokhtar, V.K. Tokhtar, V.M. Yatsenko, T.V. Petrunova // Indo american journal of pharmaceutical sciences. - 2018. - V. 05(07). - P. 6979-6984.

22. Murashige, T. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures / T. Murashige, F. Skoog // Physiol. Plant. - 1962. - V.15. - №13 - P.473-497.

UDC 582.623.2

VARIETAL FEATURES OF RHIZOGENESIS CLEMATIS MICRO-GEARS

Khoroshkova Yulia Viktorovna

graduate student

Kirina Irina Borisovna

Candidate of Agricultural Sciences, Head of the Department

rodina1947@mail.ru

Muratova Svetlana Aleksandrovna

Candidate of Biological Sciences, Professor

Akimova Kristina Sergeevna

student

Michurinsk State Agrarian University

Michurinsk, Russia

Annotation. The need for high-quality planting material for a huge number of species and varieties of ornamental crops requires the involvement of modern effective plant propagation technologies, such as clonal micro-propagation. As a

result of the research, the peculiarities of rooting of micro-gears of different clematis varieties were revealed. It was found that in most cases, at the stage of clematis rooting, it is advisable to use relatively low concentrations of auxins: 0.25-0.5 mg/l of BCI and 0.5-1.0 mg / l of IAC. An effective method of rooting can be keeping the micro-gears for a day in a solution of BCI (50 mg/l) and planting them on a hormone-free medium.

Key words: clematis, rhizogenesis, nutrient medium.