



УДК 582.739:581.145

Д.А. Костюченко

КЛОНАЛЬНОЕ МИКРОРАЗМНОЖЕНИЕ РАСТЕНИЙ (НА ПРИМЕРЕ МНОГОЛИСТНОГО ЛЮПИНА)

Исследовано влияние состава питательной среды на степень умножения побегов верхушечных и пазушных почек многолистного люпина. Показано, что высокие концентрации гормонов и неорганического азота вызывают витрификацию побегов и образование каллуса. Предпочтительным оказалось ступенчатое повышение концентрации гормонов.

Ключевые слова: биотехнология, клональное микроразмножение, культура ткани, фитогормоны.

В последнее время большое внимание уделяется разработке и внедрению биотехнологии создания ценных генотипов в сельском и лесном хозяйстве. Многолистный люпин представляет собой очень удобный объект для отработки навыков работы с культурой ткани *in vitro*. Уже первые опыты по изучению реакции тканей и органов разных генотипов люпина на питательные среды различного состава выявили большую разницу в скорости роста недифференцированной (каллусной) ткани [2]. На стандартной среде Мурасиге – Скуга (МС) [4] более сильная реакция выявлена для дикорастущего многолистного люпина (*Lupinus polyphyllus*) с белыми и синими цветками, далее по степени уменьшения – у люпина изменчивого (*L. mutabilis*), узколистного (*L. angustifolius*) и некоторых сортов и сортообразцов желтого (*L. luteus*). Анализ литературных источников показывает, что для каждого вида и даже сорта растений необходимо подбирать концентрации гормонов и основных элементов питания.

Целью данной работы явилось изучение влияния состава питательных сред на размножение побегов при культивировании *in vitro* верхушечных и пазушных почек многолистного люпина.

В опытах по пролиферации верхушечных и пазушных меристем проверены пять вариантов фитогормонов: 6-бензиламинопурина (БАП) и индолуксусная кислота (ИУК), сахароза и неорганический азот (см. таблицу).

Вариант	Сахароза, г/л	NH ₄ NO ₃	KNO ₃	БАП	ИУК	Коэффициент умножения
1	10	206	118	0	0	1,0
2	20	412	237	0,5	0,01	2,7 ± 0,3
3	30	825	475	1,0	0,04	2,9 ± 0,6
4	40	1650	950	1,5	0,15	3,0 ± 0,3
5	50	3300	1900	2,0	0,40	4,0 ± 0,6

Содержание аммонийного и нитратного азота варьировали исходя из литературных данных [3], в которых показано определяющее значение концентрации азота для степени умножения побегов на одном эксплантате. Верхушечные и пазушные почки, посаженные на среду с вариантом 1 компонентов, развивались в одиночные, нормальные по внешнему виду побеги, размножения при этом не наблюдалось. На момент учета у 50 % побегов образовались корни.

Добавление в среду фитогормонов даже в небольших концентрациях приводит к развитию нескольких побегов из одной почки. Во втором варианте в отдельных случаях были получены эксплантаты с пятью побегами, хотя среднее значение для этой среды равно 2,7 побега. На средах со всеми уровнями добавок присутствовали эксплантаты, не дававшие размножения побегов. Вероятно, это обусловлено сильным апикальным доминированием, что согласуется с данными [5]. Высокий уровень содержания всех исследуемых компонентов в питательной среде (варианты 4 и 5) приводит, кроме того, к появлению бурно развивающейся каллусной ткани у основания побегов, а также к витрификации побегов, особенно в последнем варианте.

Помимо культивирования на средах с постоянной концентрацией гормонов в течение 3 мес с трехнедельным пересевом, проанализировано пересаживание эксплантатов раз в три недели на среды с постепенным повышением концентрации БАП в соответствии с [1]. Через 3 недели инкубации почек на среде МС+БАП 0,5 мг/л коэффициент умножения составил 1,7; в последующих пассажах – на среде с БАП 1,0 мг/л – 2,7 и с БАП 1,5 мг/л – 5,7 побега на один эксплантат. При этом степень витрификации побегов была существенно ниже. По этой методике было получено в течение 9 недель 30 ... 50 побегов из одного исходного эксплантата, что в пересчете на родительский проросток составляет 100 ... 150 побегов.

Из опытов по оптимизации условий ризогенеза, где использовали, в первую очередь, добавление в среду 1,5 г/л активированного угля, а во вторых – изменение гормонального баланса и качественного состава гормонов, можно сделать вывод: желательны снижение уровня гормонов, применяемых для пролиферации побегов, кратковременная инкубация на средах без гормонов, а затем добавление в среду ауксинов.

Выявленные закономерности вполне применимы и для других культур, в том числе ткани древесных растений. Работы в этом направлении будут продолжены.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Джигадло, М.И. Клональное микроразмножение черной и красной смородины [Текст] / М.И. Джигадло // Селекция и сортоизучение черной смородины. – Мичуринск, 1988. – С. 141–143.
2. Яговенко, Т.В. Особенности недифференцированного роста разных видов люпина в условиях *in vitro* [Текст] / Т.В. Яговенко, С.А. Пигарева, Д.А. Костюченко // Саввичевские научные чтения: межвуз. сб. науч. тр. – Брянск: Изд-во БГСХА, 2003. – С. 41–47.
3. Grimes, H.G. The inorganic $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ ratio influences plant regeneration and auxin sensitivity in primary callus derived from immature embryos of Indica rice (*Oryza sativa* L.) [Text] / H.G. Grimes, T.K. Hodges // J. Plant Physiol. – 1990. – Vol. 136. – P. 362–367.
4. Murashige, T. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures [Text] / T. Murashige, F. Skoog // Physiologia Plantarum. – 1962. – Vol. 15. – P. 473–479.
5. Selva, E. *In vitro* propagation of *Vicia faba* L. by microcutting and multiple shoot induction [Text] / E. Selva, B. Stouffs, H. Briquet // Plant Cell, Tissue and Organ Cult. – 1989. – Vol. 18, N 2. – P. 167–179.

D.A. Kostyuchenko

Clonal Microreproduction of Plants (on Example of *Lupinus Polyphyllus*)

The influence of nutrient medium on degree of apical and sinus buds propagation of *Lupinus polyphyllus* is investigated. High concentrations of hormones and inorganic nitrogen cause shoot vitrification and callus formation. Step increase of hormones concentration proved to be preferable.
