

И.С. Емельянова, Е.В. Большакова, А.С. Лукаткин

ВЛИЯНИЕ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД И РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА НА МИКРОКЛОНАЛЬНОЕ РАЗМНОЖЕНИЕ *LILIUM CERNUUM* КОМ.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева»

В статье приведены результаты опытов по культивированию лилии поникающей (*Lilium cernuum* Kom.) на различных питательных средах. Установлено, что наиболее подходящей средой для лилии оказалась среда Мурасиге-Скуга. Максимальные значения по ряду показателей органогенеза (количество и длина корней, длина листьев, количество и длина побегов, количество луковиц) установлены на среде с добавлением тидиазурона. Максимальные показатели по количеству листьев установлены на среде с добавлением кинетина (1,5 мг/л и 4,0 мг/л), максимальные показатели по диаметру луковиц установлены на среде с добавлением индолилмасляной кислоты (2,0 мг/л). Стабильные показатели по органогенезу достигнуты на среде, обогащенной 6-бензиламинопурином.

Ключевые слова: лилия, *in vitro*, микроразмножение, регуляторы роста

Введение

Для решения проблемы сохранения редких и исчезающих видов, увеличения количества посадочного материала окультуренных растений широко используются биотехнологические методы микроразмножения растений [1]. При введении в культуру *in vitro* редких и исчезающих растений возникает ряд трудностей, связанных с биологическими и экологическими особенностями этих видов. Многие исследователи показали, что в ряде случаев для сохранения редких и исчезающих видов растений применение биотехнологических методов оказывается более эффективным в сравнении с традиционными способами их размножения. Так, например, в работах А.Ю. Набиевой приведена технология клонального микроразмножения нескольких видов лилий Сибири и Дальнего Востока, начиная от стерильной культуры до растений-регенерантов, с использованием в качестве эксплантов тканей и органов цветка [4]. Видовые лилии представляют огромный интерес как ценные декоративные растения и как исходный материал для селекционных проектов. Для этих целей создаются биотехнологические коллекции, посредством которых

сохраняются и реинтродуцируются редкие и исчезающие виды растений, в первую очередь те, которые плохо размножаются семенами [5]. Сохранение генофонда в культуре *in vitro* позволяет поддерживать генетические коллекции растений без изменения их наследственной природы [6].

Лилии (род *Lilium* L.) являются ценными высокодекоративными растениями, их широко используют в декоративном садоводстве открытого и защищенного грунта. Около 100 видов травянистых луковичных растений этого рода распространены преимущественно в предгорных и горных районах умеренного пояса Северного полушария от северной границы таежной зоны.

В литературе имеются сведения о влиянии минеральной основы среды и различных регуляторов роста на размножение и развитие микролуковиц лилий. Например, высаживают экспланты на агаризованную питательную среду Мурасиге-Скуга (МС), содержащую регуляторы роста: 6-бензиламинопурин (6-БАП) (1,5 мг/л) и индолилуксусную кислоту (0,5 мг/л). Затем отделяют микролуковицы от эксплантов и укореняют на питательной среде МС с добавлением 10^{-11} М/л

тидазурона (TDZ) и 0,5 мг/л α -нафтилуксусной кислоты в темноте при температуре 14 °С. Данная методика позволяет повысить выход размножаемого материала за счет увеличения количества образующихся микролуковиц при положительном влиянии оптимальных концентраций регуляторов роста [5].

В научных источниках не содержится точных сведений о наиболее оптимальном составе питательной среды и концентрации регуляторов роста в отношении *L. cernuum* Kom. Таким образом, ввиду специфичности каждого вида, нужно подбирать индивидуальные параметры состава питательной среды, регуляторов роста и других компонентов [6].

Цель и задачи исследований

Цель исследований – изучить влияние различных составов питательных сред и концентраций регуляторов роста тидазурина, 6-бензил-аминопурина, кинетина, индолилмасляной кислоты на микрклональное размножение *L. cernuum* Kom. в культуре *in vitro*.

Объекты и методики исследований

В качестве объекта в работе использовали стерильные пробирочные растения лилии поникающей (*Lilium cernuum* Kom.), которая внесена в Красную книгу Российской Федерации. Категории статуса: уязвимый вид (VU), редкий вид (3) [2, 4]. Эта лилия встречается на юге Приморского края России, в Китае и Корее. В естественных местообитаниях она произрастает на приморских скалах, каменистых и сухих мелкощелочистых склонах, в дубняках и зарослях кустарников.

Клонально размноженные экспланты высаживали на агаризованную (0,7 %) среду по прописи Мурасиге и Скуга, Фаста (рН 5,6–5,8) – в первой серии опытов; регуляторов роста: 6-БАП, TDZ, кинетин (КИН), индолилмасляная кислота (ИМК) на полной среде МС – во второй серии опытов. Растения культивировали в сосудах объемом 150 мл в условиях постоянного освещения белыми люминесцентными лампами и температуре 20–24 °С. Измерения проводили еженедельно, учитывали количество и размер листьев, количество и длину побегов, образование и длину корней, диаметр и количество луковиц.

Все опыты повторяли не менее трех раз, в каждом опыте было 10 биологических повторностей

(растений *in vitro*). Результаты обрабатывали статистически по общепринятым биометрическим формулам с использованием пакетов прикладных программ Microsoft Excel. В таблице представлены средние значения из всех опытов с их стандартными ошибками.

Результаты исследований и их обсуждение

Сравнение органогенеза у клонально размножаемых лилий на разных средах показало, что побегообразование для лилии поникающей не выявило приоритетов среди используемых сред, но максимальное значение отмечено на среде МС, что составило в среднем 1,2 шт. с одного экспланта. Рост побегов лучше выражен на среде Фаста (6,9 см) (таблица).

Максимальное значение по количеству листового органогенеза у лилии было отмечено на среде МС, что составило в среднем 4,7 шт. с экспланта, в то время как максимальная длина листовой пластины отмечена на среде Фаста (5,5 см).

Оптимальной средой для ризогенеза установлена среда МС, поскольку максимальные значения по количеству и длине корней составили 2,5 шт. и 2,5 см соответственно.

На количество образования луковиц приоритетов среди используемых сред не выявлено, но максимальные значения диаметра и количества луковиц отмечены также на среде МС, что составило в среднем 1,4 шт. с одного экспланта с диаметром 0,5 см.

Анализ морфометрических данных показал, что при культивировании *L. cernuum* на среде МС с различными гормонами максимальный рост побегов был отмечен в варианте с использованием TDZ в концентрации 10^{-13} и 10^{-10} М/л (6,8 см), тогда как для 6-БАП, ИМК и КИН показатели роста побегов в среднем составили 4,5 см, 6,2 см, 4,1 см соответственно.

При исследовании влияния регуляторов роста на листовую органогенез (количество и размер листовых пластин) выяснили, что максимальные показатели количества листьев были получены на среде, обогащенной КИН в концентрации 1,5 мг/л, поскольку среднее количество здесь составило 13,5 шт. с одного экспланта, при этом максимальная длина листовой пластины – 5,3 см отмечена при концентрации TDZ 10^{-10} М/л.

При использовании других регуляторов роста максимумы составили в среднем 1,9 см (6-БАП в

Таблица. Влияние различных питательных сред и регуляторов роста на морфогенез *Lilium cernuum* Ком.

Тип питательной среды	Морфометрические показатели								
	Кол-во листьев, шт.	Длина листьев, см	Кол-во корней, шт.	Длина корней, см	Кол-во побегов, шт.	Длина побегов, см	Кол-во луковиц, шт.	Диаметр луковиц, см	
Среда Фаста	3,8±0,3	5,5±0,4	2,2±0,7	0,5±0,1	1,1±0,2	6,9±0,5	1,3±0,2	0,4±0,1	
Среда МС	4,7±1,0	4,5±0,9	2,5±1,0	2,5±0,1	1,2±0,2	6,8±0,3	1,4±0,2	0,5±0,2	
TDZ, М/л	10 ⁻⁴	6,4±0,7	1,8±0,3	0,6±0,4	0,1±0,1	1,0±0	3,4±0,3	1,7±0,4	0,4±0,1
	10 ⁻⁷	6,5±0,4	2,3±0,8	0	0	1,0±0	3,0±0,8	2,0±0,4	0,2±0,1
	10 ⁻⁸	3,3±0,6	3,2±0,4	2,0±0,9	1,1±0,2	0,8±0,3	5,0±0,7	0,7±0,4	0,2±0,1
	10 ⁻⁹	7,4±0,6	2,5±0,3	3,7±0,8	0,4±0,1	1,2±0,2	5,4±0,4	1,8±0,4	0,5±0,2
	10 ⁻¹⁰	4,5±0,4	5,3±0,8	2,2±0,3	0,7±0,0	5,0±0,4	6,8±0,9	5,0±0,4	0,2±0,0
	10 ⁻¹¹	2,8±0,5	3,1±0,4	1,3±0,6	1,0±0,3	0,8±0,2	4,3±0,4	2,0±0,7	0,2±0,0
	10 ⁻¹³	4,9±0,8	3,4±0,5	2,0±0,6	0,4±0,1	1,3±0,2	6,8±0,9	1,9±0,4	0,4±0,0
6-БАП, мг/л	0,5	3,9±0,5	1,5±0,3	2,4±0,4	0,3±0,1	1,0±0,0	3,2±0,4	1,1±0,1	0,5±0,1
	1,0	6,5±0,9	1,5±0,5	2,1±0,4	0,3±0,2	1,0±0,0	2,9±0,7	1,3±0,2	0,5±0,1
	1,5	4,7±0,9	1,6±0,3	2,0±0,4	0,3±0,1	1,0±0,0	2,5±0,4	1,0±0,0	0,4±0,0
	2,0	7,4±0,6	1,9±0,5	2,0±0,0	0,3±0,1	1,1±0,2	4,5±1,0	1,3±0,2	0,4±0,1
	2,5	3,0±0,2	0,4±0,3	1,5±0,7	0,2±0,2	1,0±0,0	0,8±0,4	1,3±0,4	0,2±0,0
	3,0	2,8±0,9	1,0±0,4	1,7±0,4	0,6±0,5	1,0±0,0	2,9±1,3	1,0±0,0	0,3±0,1
КИН, мг/л	0,5	1,0±0,0	1,4±0,8	2,0±0,2	0,4±0,1	1,0±0,0	1,6±0,8	1,0±0,0	0,3±0,1
	1,0	2,0±0,2	2,6±0,9	1,3±0,4	0,4±0,1	1,0±0,0	1,8±1,0	1,0±0,0	0,3±0,1
	1,5	13,5±0,4	1,6±0,4	3,5±0,2	0,9±0,4	1,0±0,0	4,1±0,3	1,3±0,3	0,4±0,1
	2,0	5,0±0,2	1,4±0,6	1,5±0,7	0,2±0,1	1,0±0,0	3,1±0,6	1,0±0,0	0,3±0,1
	2,5	8,8±0,5	1,7±0,3	2,8±0,8	0,6±0,2	1,0±0,0	3,6±0,6	1,7±0,5	0,4±0,1
	3,0	5,3±0,9	2,0±0,3	1,8±0,5	0,6±0,1	1,2±0,1	3,5±0,7	1,1±0,1	0,5±0,1
	3,5	7,3±0,9	2,3±0,9	2,3±0,9	1,1±0,3	1,5±0,7	4,0±1,0	1,0±0,0	0,5±0,0
	4,0	12,5±0,4	1,0±0,3	1,5±0,7	0,4±0,3	1,5±0,7	2,2±0,5	0,7±0,4	0,2±0,2
ИМК, мг/л	1,0	4,8±0,3	3,0±0,5	1,5±1,0	0,8±0,2	1,0±0,0	4,4±0,7	1,3±0,4	0,5±0,0
	1,5	3,0±1,0	2,8±0,9	1,0±0,4	0,4±0,1	0,8±0,2	4,6±0,5	1,0±0,0	0,3±0,1
	2,0	4,4±0,9	3,7±0,9	4,0±0,9	0,3±0,1	1,0±0,0	5,5±0,8	1,0±0,0	0,6±0,1
	2,5	2,5±0,9	4,1±0,9	2,0±0,9	0,4±0,1	1,0±0,0	6,2±0,1	1,0±0,0	0,5±0,0

концентрации 2,0 мг/л), 2,6 см (КИН в концентрации 1,0 мг/л), 4,1 см (ИМК в концентрации 2,0 мг/л).

На ризогенез *L. cernuum* регуляторы роста оказали следующее влияние. Пиковое значение по количеству корней отмечено при использовании ИМК в концентрации 2,0 мг/л (в среднем 4 шт.). Близкие к пиковому значения были выявлены на среде с добавлением TDZ в концентрации 10⁻⁹ М/л, что составило в среднем 3,7 шт. с одного экспланта. Максимальные значения по данному параметру при использовании 6-БАП (0,5 мг/л), КИН (1,5 мг/л) составили в среднем 2,4 шт., 3,5 шт. соответственно.

Пиковое значение по длине корней отмечено при использовании TDZ в концентрации 10⁻¹⁵ М/л,

что составило в среднем 2,5 см с одного экспланта. Близкие к пиковому значения были выявлены при культивировании на среде с добавлением КИН в концентрации 3,5 мг/л, что составило в среднем 1,1 см с экспланта.

При исследовании влияния регуляторов роста на образование луковиц (количество и диаметр луковиц) выяснили, что для *L. cernuum* максимальное значение диаметра луковиц было получено на среде с добавлением ИМК в концентрации 2,0 мг/л и составило 0,6 см, тогда как максимальное количество луковиц отмечено на среде с добавлением TDZ в концентрации 10⁻¹⁰ М/л и составило в среднем 5,0 шт. (рис.).



Рис. *Lilium cernuum* Kom. в культуре *in vitro*
Fig. *Lilium cernuum* Kom. cultivated *in vitro*

Выводы

Питательные среды и внесение в них регуляторов роста оказывает существенное влияние на формирование и рост побегов, корней, листьев и формирование луковиц *Lilium cernuum* Kom. в культуре *in vitro*. Наиболее подходящей средой для данного вида оказалась среда МС, а максимальные значения по ряду показателей органогенеза (количество и длина корней, длина листьев, количество и длина побегов, количество луковиц) установлены на среде с добавлением TDZ. На среде МС с добавлением TDZ в концентрации 10^{-10} , 10^{-13} , 10^{-15} М/л были получены оптимальные данные по длине побегов, корней и листьев. Максимальные показатели по количеству листьев были установлены на среде с добавлением КИН (1,5 мг/л и 4,0 мг/л), по диаметру луковиц – на среде с добавлением ИМК (2,0 мг/л). Стабильные показатели по органогенезу достигнуты на среде, обогащенной 6-БАП.

1. Егорова Н.А., Ставцева И.В. Микроразмножение сортов эфиромасличной розы в культуре *in vitro* // Вестник Удмуртского университета. 2016. Т. 26. № 2. С. 45–52.
2. Красная книга Российской Федерации (растения и грибы). М.: Товарищество научных изданий КМК, 2008. 855 с.

3. Мокишин Е.В., Лукаткин А.С. Влияние регуляторов роста на морфогенез Лонгифлорум-Азиатик-гибридов лилий в культуре *in vitro* // Агрехимия. 2005. № 3. С. 55–59.
4. Набиева А.Ю. Размножение в культуре *in vitro* *Lilium cernuum* Kom., *Lilium distichum* Nakai. и *Lilium pumilum* Delile при использовании эксплантов тканей и органов цветка // Современные проблемы науки и образования. 2015. № 6. С. 618.
5. Решетников В., Спиридович Е., Фоменко Т., Носов А. Растительная биотехнология – способ использования биосинтетического потенциала // Наука и инновации. 2014. Т. 5. № 135. С. 21–25.
6. Спиридович Е.В., Власова А.Б., Фоменко Т.И., Козлова О.Н., Вайновская И.Ф., Юхимук А.Н., Кузьменкова С.М., Решетников В.Н. Асептические коллекции и банк ДНК редких растений Центрального ботанического сада НАН Беларуси // Проблемы сохранения биологического разнообразия и использования биологических ресурсов. Матер. III Междунар. науч.-практ. конф., посвященной 110-летию со дня рождения академика Н.В. Смольского. В 2-х частях. 2015. С. 473–478.

Поступила в редакцию: 11.07.2019

UDC 58.085:581.143.6:582.572.226

**THE EFFECT OF NUTRIENT MEDIA AND GROWTH REGULATORS
ON MICROCLONAL REPRODUCTION OF *LILIUM CERNUUM* KOM.**

I.S. Emelyanova, E.V. Bolshakova, A.S. Lukatkin

*Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education
«National Research Ogarev Mordovia State University»*

The paper presents results of two series of experiments on nodding lily cultivation (*Lilium cernuum* Kom.), on various nutrient media. The most suitable medium for lily was Murashige-Skoog medium. The maximum values of a number of organogenesis indicators (number and length of roots, length of the leaves, number and length of sprouts, quantity of bulbs) are registered on a thidiazuron-supplemented medium. Maximum values for the number of leaves were noted on kinetin-supplemented (1.5 mg/l and 4.0 mg/l) and the bulb diameter – on the indolebutyric acid-supplemented medium (2.0 mg/l). The stable indicators of organogenesis achieved in medium enriched with 6-BAP.

Key words: lilies, *in vitro*, microclonal reproduction, growth regulators