НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ТОМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

Ботанические сады как центры изучения и сохранения фиторазнообразия

Труды Международной научной конференции, посвященной
140-летию Сибирского ботанического сада
Томского государственного университета

Томск, 28–30 сентября 2020 г.

Томск
Издательство Томского государственного университета
2020

Ускоренное размножение *in vitro* и массовое получение растений-регенерантов глоксинии гибридной

А.А. Зарипова, А.А. Мухаметвафина, А.И. Шигапова, К.А. Уразбахтина, А.Ш. Ахметова

Южно-Уральский ботанический сад-институт УФИЦ РАН, Уфа, Россия, zaripova.al@mail.ru

Аннотация. Представлены результаты клонального микроразмножения декоративноцветущего сорта глоксинии гибридной *Gloxinia hybrida* hort. 'Strawberry Ice-Cream'. Определён способ получения стерильной культуры, выявлен оптимальный состав питательной среды, которые обеспечили регенерацию и укоренение адвентивных побегов *in vitro*, подобраны условия перевода растений-регенерантов *ex vitro*. В культуре *in vitro* с одного листа можно получить свыше тысячи идентичных растений за 6 месяцев, тем самым сокращая время размножения на целый год.

Ключевые слова: *Gloxinia hybrida*, культура *in vitro*, регенерация, ризогенез, клональное микроразмножение, перевод растений-регенерантов *ex vitro*.

Accelerated propagation *in vitro* and mass production of regenerating plants of *gloxinia hybrida*

A.A. Zaripova, A.A. Mukhametvafina, A.I. Shigapova, K.A. Urazbakhtina, A.Sh. Akhmetova

South-Ural Botanical Garden-Institute, Ufa Federal Research Centre, RAS, Ufa, Russia, zaripova.al@mail.ru

Abstract. The results of clonal micro-propagation of the decorative-flowering variety *Gloxinia hybrid* 'Strawberry Ice-Cream' are presented. The method of obtaining a sterile culture was determined, the optimal composition of the nutrient medium was identified, which provided regeneration and rooting of adventitious shoots *in vitro*, and the conditions for transferring plants-regenerants *ex vitro* were selected. *In vitro* culture, you can get more than a thousand identical plants from a single leaf in 6 months, thereby reducing the propagation time by a whole year.

Keywords: *Gloxinia hybrida*, *in vitro* culture, regeneration, rhizogenesis, clonal micropropagation, the transfer of regenerated plants to *ex vitro*.

Наиболее перспективным в промышленном производстве размножения цветочных культур является метод культуры тканей и органов растений, который позволяет массово получать за короткие сроки посадочный материал.

Объектом нашего исследования являлся махровый сорт глоксинии гибридной *Gloxinia hybrida* hort. 'Strawberry Ice-Cream' голландской селекции, восхищающий крупными махровыми цветками цвета клубничного сока и белой каймой по краю лепестков. Цветонос крепкий средней длины. Куст компактный. Сорт предрасположен к букетному цветению. Произрастает в коллекции Южно-Уральского ботанического сада-института г. Уфы.

Цель работы состояла в разработке ускоренного размножения и массовом получении растений-регенерантов глоксинии гибридной *Gloxinia hybrida* hort. 'Strawberry Ice-Cream' в культуре *in vitro*.

В эксперимент отбирали неповрежденные листья генеративных растений, которые обрабатывали с использованием стерилизующих растворов 0,1 % диацид и 70 % этанол. Экспозиция воздействия стерилизующих агентов составляла от 0,5 до 20 мин в различных комбинациях. В качестве эксплантов использовали фрагменты листовых пластинок вместе с центральной жилкой размером 2–4 см².

Оптимальным вариантом стерилизации являлось выдерживание растительных объектов в 70% растворе этанола в течение 0,5 мин и 0,1% растворе диацид в течение 10 мин. При данной схеме стерилизации получено максимальное число – 97 % жизнеспособных и стерильных эксплантов.

Экспланты помещали на питательную среду в пробирки или колбы. Приготовление и стерилизацию питательных сред проводили согласно имеющимся рекомендациям (Бутенко, 1964; Калинин и др., 1980). Для культивирования использовали питательную среду Мурасиге и Скуга (MS) (Murashige, Skoog, 1962), модифицированную по составу и концентрации регуляторов роста 6-бензиламинопурина (БАП), кинетина (Кин), 3-индолилуксусной кислоты (ИУК) и индолил-3-масляной кислоты (ИМК).

При оптимальных условиях стерилизации все экспланты глоксиии размножаемого сорта, прошедшие асептическую обработку оставались способными к регенерации. Образования адвентивных почек из тканей растения добивались за счет внесения различного количества регуляторов роста в питательную среду. Этот процесс, как правило, происходит на средах, содержащих один цитокинин или в сочетании с ауксином. В качестве цитокинина применяют БАП или кинетин, как ауксин наиболее часто используют ИУК (Ахметова с соавт., 2015).

Стерильные экспланты глоксиии помещали на пять вариантов питательной среды MS (табл.). Первые морфологические изменения наблюдались уже в первую неделю культивирования. Экспланты утолщались, особенно по местам срезов. Через две недели наблюдалось формирование первых адвентивных побегов. Через 1 месяц культивирования без проведения пассажа побеги образовывали 2–4 листочка (рис. 1).

Влияние регуляторов роста на морфогенез *Gloxinia hybrida* hort. 'Strawberry Ice-Cream' в условиях *in vitro*

№	Регуляторы роста, мг/л				Тип морфогенеза
	БАП	Кин	ИУК	ИМК	
1	–	–	–	–	Рост единственного побега с множеством корней (геммориогенез)
2	0,5	–	0,2	–	Бесконечная регенерация побегов (геммогенез)
3	–	–	0,5	0,5	Рост корней (ризогенез)
4	1,0	1,0	1,0	–	Бесконечная регенерация побегов (геммогенез), через две недели после их формирования наблюдалась витрификация
5	0,5	–	0,5	–	Бесконечная регенерация побегов (геммогенез)

Рис. 1. Регенерация адвентивных побегов *Gloxinia hybrida* hort. 'Strawberry Ice-Cream' на питательной среде MS, содержащей БАП 0,5 мг/л и ИУК 0,2 мг/л через 1 мес.

Оптимальными средами для формирования побегов являлись варианты питательной среды, содержащие БАП в концентрации 0,5 мг/л и ИУК в концентрации 0,2 и 0,5 мг/л. На этих средах получен самый высокий коэффициент регенерации. На 1 см² листового экспланта формировалось около 50 побегов в течение одного месяца с начала визуальной регенерации. Далее наблюдали бесконечную закладку почек, пока ткань экспланта не отмирала.

В асептических условиях ламинар-бокса из культуральных сосудов извлекали конгломерат побегов, отделяли побеги сформировавшие корни, побеги без корней пересаживали на среду MS для ризогенеза, содержащую ИУК и ИМК по 0,5 мг/л. В течение 3–4 недель микропобеги образовывали корни и увеличивался габитус растений-регенерантов. Использование на этапе укоренения питательной среды с ауксинами позволило ускорить ризогенез на 1–2 недели по сравнению с безгормональной питательной средой.

Дальнейшее доразрастание растений-регенерантов вызывало возникновение и развитие клубеньков. У всех растений глоксиии на безгормональной среде продолжали формироваться дочерние побеги, хотя и не в таких объемах, как на среде размножения. Данный факт указывает на высокий морфогенетический потенциал у глоксиии.

На следующем этапе размножения растения переводили в почвенный субстрат и содержали в условиях вегетационной комнаты. Растения глоксии с хорошо развитой корневой системой переносили в контейнеры с почвенной смесью (рис. 2), состоящей из равных частей садовой земли, перегноя и речного песка. Первые две недели растения *ex vitro* накрывали укрывным материалом «Агротекс», который пропускает воздух, поддерживает влажность и защищает от колебания температуры, не пригибая их своей тяжестью. Приживаемость растений составила 90–95%. Через 3 недели растения-регенеранты рассаживали в отдельные вегетативные сосуды. Пересаженные глоксии развивались образуя бутоны, спустя 1–1,5 месяца зацветали (рис. 3.).

Рис. 2. Выращивание растений глоксии гибридной *Gloxinia hybrida* hort. 'Strawberry Ice-Cream' в почвенном субстрате

Рис. 3. Генеративные растения-регенеранты глоксии гибридной *Gloxinia hybrida* hort. 'Strawberry Ice-Cream'

В культуре *in vitro* с одного листа средней величины получаем 10–12 фрагментов размером 2 см². Далее на подобранной нами питательной среде на каждом экспланте вызываем регенерацию более 100 побегов. Таким образом, с одного листа получаем свыше тысячи идентичных растений за 6 месяцев, тем самым сокращая время размножения на целый год.

ЛИТЕРАТУРА

- Ахметова А.Ш., Миронова Л.Н., Запинова А.А. Микроразмножение *Hosta albomarginata* (Hook) Ohwi изолированными зародышами // Агро XXI. 2015. № 4–6. С. 37–39.
- Бутенко Р.Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений. М.: Наука, 1964. 272 с.
- Калинин В.Ф., Сарнацкая В.В., Полищук В.Е. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений. Киев: Наукова думка, 1980. 488 с.
- Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiol. Plant. 1962. V. 15, № 13. P. 473–497.