

у

*Е. А. Попович,**Центральный ботанический сад НАН Беларуси, г. Минск*

КЛОНАЛЬНОЕ МИКРОРАЗМНОЖЕНИЕ ДЕКОРАТИВНЫХ РАСТЕНИЙ

Применение новых методических приемов в науке всегда связано с очередной возможностью углубления знаний. Итогом быстрого развития техники культивирования растений *in vitro* явилось понимание необходимости изучения биологии используемых объектов на всех уровнях — тканевом, клеточном, субклеточном и молекулярном, а также создание практически важных технологий. В настоящее время технологии клонального микроразмножения активно используются для производства растений во всем мире. Несомненными лидерами в этом являются США и Нидерланды, хотя в последнее десятилетие значительно увеличилось применение наукоемких технологий размножения растений в странах с более низкой оплатой ручного труда [1—2].

За последние 10 лет нами были разработаны оригинальные технологии микроклонального размножения ряда популярных декоративных растений (сирени, роз, клематисов, гипсофилы, нескольких видов орхидей). Ведутся активные работы по изучению особенностей культивирования других растений (хосты, гиацинта, вереска и др.). Клональное микроразмножение было использовано для создания коллекции стерильных культур, которая сейчас насчитывает более 50 культур 13 видов декоративных растений, относящихся к 10 семействам. В настоящее время коллекция используется для проведения биотехнологических исследований, в т. ч. для изучения проблем адвентивного органогенеза и работ по генетической инженерии.

Использование микроклонирования растений позволяет решить ряд практически значимых проблем: 1) быстро получить необходимое количество элитного материала; 2) оздоровить растения и улучшить их

качество за счет освобождения от патогенов; 3) омолодить растения, что выражается в повышении активности ростовых процессов и улучшении ризогенеза регенерантов.

Разработка методики, а тем более технологии микроклонирования связана с большой экспериментальной работой, выражающейся в эмпирическом подборе условий культивирования растений. Для уменьшения количества рутинных экспериментов применялись следующие приемы: 1) для инициации стерильной культуры использовали либо онтогенетически молодые ткани, либо приемы предварительного омоложения, а затем работали с омоложенными тканями; 2) изучали условия естественного обитания растения и корректировали эксперимент по подбору минерального состава питательной среды, температуры и освещения; 3) использовали методы математического планирования и анализа эксперимента (полный или дробный многофакторный эксперимент с последующим дисперсионным и/или регрессионным анализом).

Регенерация растений в условиях *in vitro* может происходить разными способами. В технологиях микроклонирования наиболее часто реализуется регенерационный потенциал первичных меристем. Это особенно важно для размножения ценных генотипов и декоративных форм растений, свойства которых не поддерживаются при семенном воспроизведении. Несмотря на относительно меньшее количество получаемых растений, этот способ гарантирует сохранение у регенерантов признаков исходной формы в пределах естественного клонирования, что и делает его более технологичным. Клональное микроразмножение подавляющего большинства культур декоративных растений нашей коллекции (сирени, розы, клематисы, фаленопсисы, вереск, гипсофила) осуществляется активацией пазушных меристем.

Очень эффективной системой регенерации является соматический эмбриогенез. Этот способ размножения, по сравнению с другими, позволяет получать наибольшее число растений от одного экспланта. Если соматический эмбриогенез не связан с активным ростом каллуса, то большинство регенерантов сохраняют признаки исходного растения. В нашей работе с помощью соматического эмбриогенеза размножаются орхидеи. Интересно, что культуры онцидиума и эпидендрума были иницированы и размножаются на среде без регуляторов роста и с незначительным ростом каллуса.

Практика показала, что растения часто имеют большую специфичность минерального питания. Это требует подбора оптимальной питательной среды. Наиболее универсальной и используемой средой до сих пор считают среду Мурасиге и Скуга [3]. Во многих случаях целесообразна модификация или замена этой питательной среды. Так, для таких растений, как сирень, роза, гипсофил, клематис, нами были использованы различные по минеральному составу модификации среды MS, а для вереска с успехом применялась среда WPM [4].

Очень серьезной проблемой культивирования растений *in vitro* является гипероводненность (или витрификация) [5—6]. Аномалия связана с нарушением водного обмена растения и может иметь разные проявления. Это сигнал неадекватных условий культивирования. В конечном счете развитие этой аномалии приводит к гибели меристем. Данная проблема часто решается оптимизацией физических условий культивирования. Для многих растений при небольшой степени проявления аномалии проблема может быть решена за счет оптимизации минерального и гормонального состава питательной среды. В нашей работе сложности с преодолением гипероводненности возникли при культивировании сирени и гипсофилы. У сирени это проявлялось в виде скручивания листьев, которые позже разрастались и становились “стекловидными”, а у гипсофилы — в виде разрастания эксплантов и развития “стекловидных” побегов. В обоих случаях для решения проблемы применяли не только снижение влажности за счет использования ватно-марлевых пробок и строгий контроль температуры культивирования, но и оптимизацию минерального и фитогормонального состава питательной среды [7].

В случае адекватно подобранных условий клонирования полученные активно растущие и размножающиеся побеги хорошо укореняются. Наша практика показала, что растения, размножающиеся с помощью органогенеза, должны затем укорениться *in vitro* либо ризогенез необходимо дополнительно индуцировать *ex vitro*. Все изучаемые нами растения хорошо укоренялись на средах с половинным содержанием минеральных солей. Для таких растений, как сирень, розы, вереск, гипсофила, необходимо было добавлять в среду небольшие количества ауксина. Клематисы и хосты укоренялись на среде без регуляторов роста. Изучаемые нами орхидные размножались с помощью соматического эмбриогенеза и не требовали отдельного этапа укоренения.

Несмотря на существенные генотипические и физиологические различия изучаемых декоративных растений, технологии их микроклонального размножения отражают ряд закономерностей, изучение которых способно облегчить разработку подобных технологий для других культур.

-
1. Pierik R. L. M. Commercial aspects of microporpagation // Horticulture-new technologies and applications. Prakash j., Pierik R. L. M. ets. 1991. P. 141—153.
 2. Pierik R. L. M.,Ruibing M. A. Developments in the micropagation industry in The Netherlands // Pl. Tis. Culture and Biotechnology. 1997. V. 3. P. 152—156.
 3. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // *Physiol. Plant.* 1962. V. 15. P. 473—497.
 4. Lloyd G., McCown B. Commercially feasible micropagation of mountain laurel, *Kamlia latifolia*, by nse of shoot-tip culture // *Proc. Inter. Pl. Prop. Soc.* 1980. V. 30. P. 421—427.
 5. Reconsideration of the term “vitrification” as used in micropagation / Debergh P., Aitken-Christie J., Cohen D., etc. // *Pl. Cell, Tis. Org. Culture.* 1992. V. 30. P. 135—140.
 6. Gaspar Th. The concept of cancer in in vitro plant cultures and the implication of habituation to hormones and hyperhydricity // *Pl. Tis. Culture and Biotechnology.* 1995. V. 1. P. 126—136.
 7. Popowich E. A., Filipenya V. L. Features of micropagation of *Syringa vulgaris* L. // *Scientific works of the Lithuanian Institute of horticulture and Lithuanian university of agriculture. Horticulture and vegetable growing. Horticulture.* 2000. V. 19 (3). P. 434—440.

Б

У