



HORTUS BOTANICUS

Журнал Совета ботанических садов СНГ при МААН

12 / 2017

HORTUS BOTANICUS

Журнал Совета ботанических садов СНГ при МААН

12 / 2017

ISSN 1994-3849

Эл № ФС 77-33059 от 11.09.2008

Главный редактор

А. А. Прохоров

Редакционный совет

П. Вайс Джексон
А. С. Демидов
Т. С. Маммадов
В. Н. Решетников
Т. М. Черевченко

Редакционная коллегия

Г. С. Антипина
Е. М. Арнаутова
А. В. Бобров
Ю. К. Виноградова
Е. В. Голосова
Ю. Н. Карпун
В. Я. Кузеванов
Е. Ф. Марковская
Ю. В. Наумцев
Е. В. Спиридович
К. Г. Ткаченко
А. И. Шмаков

Редакция

А. В. Еглачева
С. М. Кузьменкова
К. О. Романова
А. Г. Марахтанов

Адрес редакции

185910, Республика Карелия, г. Петрозаводск, ул. Анохина, 20, каб. 408.

E-mail: hortbot@gmail.com

<http://hb.karelia.ru>

© 2001 - 2017 А. А. Прохоров

На обложке:

Оранжереи Главного ботанического сада им. Н. В. Цицина Российской Академии Наук

Разработка и техническая поддержка

Отдел объединенной редакции научных журналов ПетрГУ, РЦ НИТ ПетрГУ,
Ботанический сад ПетрГУ

Петрозаводск

2017

Морфогенетический потенциал эксплантов представителей рода *Rhamnus* L. *in vitro*

| | |
|-----------------------------------|---|
| ЖУРЖА Юлия Витальевна | Национальный дендрологический парк «Софиевка» НАН Украины, ул. Киевская 12а,, г. Умань, 20300, Украина vadik79-79@mail.ru |
| КОЛДАР Лариса Антоновна | Национальный дендрологический парк «Софиевка» НАН Украины, ул. Киевская 12а,, г. Умань, 20300, Украина koldar55@ukr.net |

Ключевые слова:
in vitro, *Rhamnus*,
Rhamnaceae, морфогенез,
фитогормоны, размножение

Аннотация: Цель работы заключалась в подборе фитогормонального состава питательных сред, в условиях культуры *in vitro* для достижения морфогенеза эксплантов *Rhamnus alnifolia*, *R. diamantica*, *R. cathartica*, *R. imeretina* и *R. tinctoria*. Материалом для исследований послужили микрочеренки, взятые из 3–5 летних растений *R. alnifolia*, *R. diamantica*, *R. cathartica*, *R. imeretina* и *R. tinctoria* в период их активного роста (вторая декада мая – третья декада июня). Экспериментальные исследования проводили в лаборатории микрклонального размножения растений Национального дендрологического парка «Софиевка» НАН Украины. При культивировании видов растений *in vitro* использовали метод индукции морфогенеза эксплантов под действием регуляторов роста. Модификацию питательных сред Мурасиге и Скуга (МС) для индукции морфогенеза, проводили с использованием пяти концентраций 6–бензиламинопурина (6-БАП), с добавлением витаминов и аминокислот. Под влиянием различных концентраций фитогормонов наиболее активно процессы морфогенеза у эксплантов *R. alnifolia*, *R. diamantica*, *R. cathartica*, *R. imeretina* и *R. tinctoria* происходили на среде IV при концентрации в питательной среде 6-БАП — 2,0 мг/л, β-ИМК — 1,0 мг/л, где коэффициент размножения при втором пассаже составил у *R. diamantica* — 5,3, у *R. tinctoria* — 4,4, *R. alnifolia* — 3,5. У *R. cathartica* и *R. imeretina* коэффициент размножения был значительно ниже и соответственно составил 2,0 и 2,4.

Получена: 13 марта 2017 года

Подписана к печати: 16 сентября 2017
года

Введение

Виды рода *Rhamnus* являются ценными лекарственными, витаминными, техническими, медоносными и декоративными растениями, потенциальные возможности которых почти не использованы.

Значительный интерес, в этом плане, представляют такие виды как *R. alnifolia*, *R. diamantica*, *R. cathartica*, *R. imeretina* и *R. tinctoria*, которые, благодаря своим декоративным свойствам, могут широко использоваться в зеленом строительстве, в частности, они пригодны для создания живых изгородей, топиарных сооружений, солитерных посадок и украшения газонов (Деревья и кустарники СССР, 1962).

Перспективность расширения культуры этих растений в значительной степени зависит от разработки эффективных методов размножения.

Основными методами размножения видов рода *Rhamnus* является семенной и вегетативный, которые не всегда могут обеспечить необходимое количество растительного материала для нужд зеленого строительства.

Поэтому актуальным является использование альтернативного метода — размножение в культуре *in vitro*, что позволяет решать важные проблемы растениеводства, а именно: в десятки и сотни раз увеличить коэффициент размножения растений, получить здоровый, безвирусный посадочный материал, а также с его помощью сохранить генофонд редких и исчезающих видов природной флоры (Кушнір, 2005).

Этот метод базируется на процессах адвентивной регенерации, во время которой адвентивные (придаточные) почки образуются не из первичных апикальных, а из вторичных боковых и раневых меристем в результате дедифференциации клеток, что позволяет повысить морфогенный потенциал растений, увеличить коэффициент размножения (Калинин, 1980). Стоит отметить, что морфогенный потенциал растительных клеток проявляется в культуре *in vitro* в более широком диапазоне по сравнению с природными условиями, благодаря эволюционно обусловленной способности сосудистых растений к регенерации (Журавлев, 2008).

Цель работы заключалась в подборе фитогормонального состава питательных сред в условиях культуры *in vitro* для достижения морфогенеза эксплантами *R. alnifolia*, *R. diamantica*, *R. cathartica*, *R. imeretina* и *R. tinctoria*.

Объекты и методы исследований

Материалом для исследований послужили микрочеренки, заготовленные из побегов с апикальными и пазушными почками, взятые из 3–5 летних растений в период их активного роста (вторая декада мая – третья декада июня). Экспериментальные исследования проводили в лаборатории микрклонального размножения растений Национального дендрологического парка «Софиевка» НАН Украины.

При культивировании эксплантов *R. alnifolia*, *R. diamantica*, *R. cathartica*, *R. imeretina* и *R. tinctoria in vitro* использовали метод индукции морфогенеза растений под действием регуляторов роста. Модификацию питательных сред Мурасиге и Скуга (МС) для индукции морфогенеза проводили с использованием пяти концентраций 6-бензиламинопурина (6-БАП), фитогормонов α -нафтилуксусная и α -нафтилуксусная (α -НУК) кислот, с добавлением витаминов и аминокислот (Murashige, 1962) (табл. 1).

С целью получения стерильного жизнеспособного растительного материала стерилизацию проводили в два этапа. Предварительная обработка осуществлялась дезинфицирующими растворами: "Биомой" (НПО ФАРМАКОС Украина) и "Септодор–Форте" (ВИК-А Украина), основная — 0,1 % водным раствором дихлорида ртути (HgCl₂). Для более

эффективного действия к реагенту добавляли эмульгатор "Твин 80". Повторность опыта — трехкратная. Посуду, материалы, инструменты и питательные среды готовили согласно методик Ф. Л. Калинина и В. А. Кунаха (1980, 2005). Пасаж эксплантов проводили через 26–30 суток.

Таблица 1. Содержание фитогормонов в модифицированных питательных средах

Table 1. Phytohormones in modified nutrient media

| Варианты питательных сред | Фитогормоны, мг/л | | |
|---------------------------|-------------------|-----|-----|
| | БАП | НУК | ИМК |
| I | 0,5 | 0,5 | — |
| II | 1,0 | 1,0 | — |
| III | 1,5 | — | 0,5 |
| IV | 2,0 | — | 1,0 |
| V | 2,5 | 0,1 | 0,1 |

Результаты и обсуждение

Полученный стерильный жизнеспособный материал высаживали на питательные среды Мурасиге и Скуга с различным содержанием регуляторов роста.



Рис. 1. Введение *R. diamantica* *in vitro*.

Fig. 1. Introduction *R. diamantica* *in vitro*.

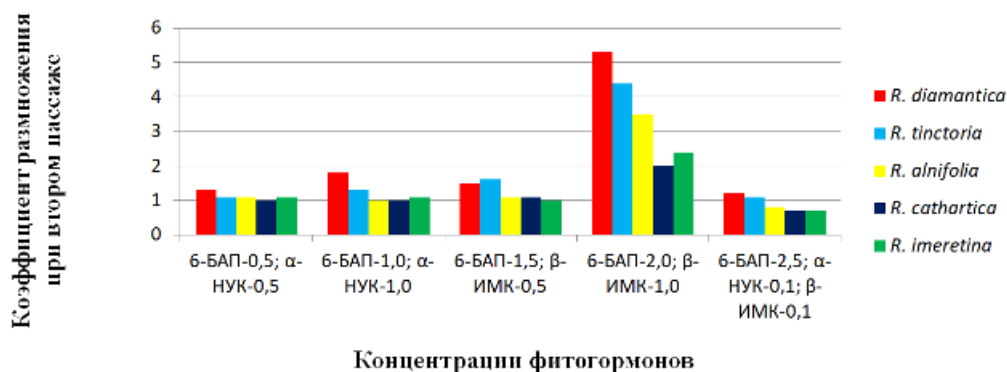


Рис.2. Коэффициент размножения в зависимости от фитогормонального состава питательных сред.

Fig. 2. The coefficient of reproduction depending on the phytohormonal composition of nutrient media.

В течение 25–30 суток с момента переноса эксплантов на питательные среды, наблюдали разрастание с разной интенсивностью базальной части эксплантов и формирование зачатков адвентивных почек. Это послужило началом прямого морфогенеза, при котором путем активации меристемных тканей и дедифференциации клеток начинали формирование адвентивные почки, из которых в течение 15–23 суток начинался рост побегов. Через 20–25 суток от начала роста, в зависимости от содержания фитогормонов в питательных средах и их концентраций, побеги достигли 0,5–1,8 см. По результатам исследования выявлено существенное различие между вариантами как по росту эксплантов, так и по коэффициенту размножения, что является основным показателем морфогенного потенциала эксплантов (рис. 2). По результатам использования многочисленных модификаций сред были отобраны наиболее эффективные.

Под влиянием различных концентраций фитогормонов наиболее активно процессы морфогенеза происходили на среде IV при концентрации в питательной среде 6-БАП — 2,0 мг / л, β-ИМК — 1,0 мг / л, где коэффициент размножения при втором пассаже составил в *R. diamantica* — 5,3, у *R. tinctoria* — 4,4, *R. alnifolia* — 3,5. У *R. cathartica* и *R. imeretina* коэффициент размножения был значительно ниже и соответственно составил 2,0 и 2,4.



Рис. 3. Морфогенез *R. diamantica* *in vitro*.

Fig. 3. Morphogenesis *R. diamantica* *in vitro*.

Питательные среды с меньшим содержанием 6-БАП (0,5–1,5 мг / л) обеспечивали хороший рост побегов, однако коэффициент размножения был значительно меньше и составлял, соответственно, у *R. diamantica* — 1,3; 1,8 и 1,5, а у *R. tinctoria* — 1,1; 1,3 и 1,6. У видов *R. alnifolia*, *R. cathartica* и *R. imeretina* коэффициент размножения составил 1. Повышенное содержание 6-БАП (2,5 мг / л) с добавлением 0,1 мг / л α -НУК и 0,1 мг / л β -ИМК значительно уменьшал коэффициент размножения, который составил в *R. diamantica* — 1,2, у *R. tinctoria* — 1,1, а у *R. alnifolia*, *R. cathartica* и *R. imeretina* был ниже уровня 1.

Выводы и заключение

В результате проведенных исследований установлено, что морфогенез эксплантов *R. alnifolia*, *R. diamantica*, *R. cathartica*, *R. imeretina* и *R. tinctoria* зависит от количественного содержания фитогормонов в питательных средах. Наиболее эффективной была питательная среда с содержанием 6-БАП — 2,0 мг / л и β-ИМК — 1,0 мг / л, что способствовало активному прохождению процессов морфогенеза. Наиболее высоким коэффициентом размножения при втором пассаже был у эксплантов *R. diamantica* — 5,3, *R. tinctoria* — 4,4, *R. alnifolia* — 3,5. У *R. cathartica* и *R. imeretina* этот показатель был намного меньше и составлял соответственно 2,0 и 2,4. Уменьшение и увеличение концентраций приводило к понижению показателей коэффициента размножения по всем видам.

Литература

- Соколов С. Я., Артюшенко З. Т., Гусев Ю. Д., Зайцев Г. Н. и др. Деревья и кустарники СССР. М.: Изд-во АН СССР, 1962. Т. 4. 974 с.
- Журавлев Ю. Н., Омелько А. М. Физиология растений. Морфогенез у растений in vitro. 2008. Т. 55. № 5. С. 643—664.
- Калинин Ф. Л., Сарнацкая В. В., Полищук В. Е. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений. К.: Наукова думка, 1980. 488 с.
- Кунах В. А. Біотехнологія лікарських рослин. Генетичні та фізіолого-біохімічні основи. К.: Логос, 2005. 730 с.
- Кушнір Г. П., Сарнацька В. В. Мікроклональне розмноження рослин, теорія і практика. К.: Наукова думка, 2005. 242 с.
- Murashige T. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture / T. Murashige, F. K. Skoog // *Physiol. Plant.* 1962. Vol. 15. P. 473—497.

Morphogenetic potential of explants *Rhamnus* L. genus representatives *in vitro*

| | |
|-----------------------------------|--|
| ZHURZHA Yulya | Dendrological park Sofiivka of National Academy of Sciences of Ukraine, Kievskaya 12 st., Uman, 20300, Ukraine vadik79-79@mail.ru |
| KOLDAR Larysa Antonovna | Dendrological park Sofiivka of National Academy of Sciences of Ukraine, Kievskaya 12 st., Uman, 20300, Ukraine koldar55@ukr.net |

Key words:

in vitro, *Rhamnus*, *Rhamnaceae*, morphogenesis, phytohormones, reproduction

Summary:

The aim of the research was to choose phytohormonal content of nutritive environment under the conditions of *in vitro* culture to achieve the morphogenesis by explants *Rhamnus alnifolia*, *R. diamantica*, *R. cathartica*, *R. imeretina* and *R. tinctoria*. The material for the research were micro sprigs taken from three or five year old plants *R. alnifolia*, *R. diamantica*, *R. cathartica*, *R. imeretina* and *R. tinctoria* during the period of their active growth (10.05–20.06). Experimental research has been carried out in the laboratory of the microclonal propagation of plants of the National dendrological park “Sofiivka” of the National Academy of Sciences of Ukraine. The method of plants induction morphogenesis under the influence of growth regulation was used in species cultivation. Paravariation of nutrient solution Murasige and Skuga (MS) for morphogenesis induction has been carried out under the use of five tonicities of 6–benzylaminopurine (6-BAP) with addition of vitamins and amino acids. Under the influence of different tonicities of plant hormones the processes of morphogenesis took place in the most active way for *R. alnifolia*, *R. diamantica*, *R. cathartica*, *R. imeretina* and *R. tinctoria* in the environment IV under the tonicity of the nutrient solution of 6-BAP — 2,0 mg/l, β -isobutyric acid — 1,0 mg/l, where the rate of reproduction during the second transfer comprised for *R. diamantica* — 5,3, and for *R. tinctoria* — 4,4, *R. alnifolia* — 3,5, *R. cathartica* — 2,0, *R. imeretina* — 2,4.

Is received: 13 march 2017 year

Is passed for the press: 16 september 2017 year

References

- Sokolov S. Ya., Artyushenko Z. T., Gusev Yu. D., Zajtsev G. N. i dr. Derevyia i kustarniki SSSR. M.: Izd-vo AN SSSR, 1962. T. 4. 974 s.
- Zhuravlev Yu. N., Omelko A. M. Fiziologiya rastenij. Morfogenez u rastenij *in vitro*. 2008. T. 55. № 5. S. 643—664.
- Kalinin F. L., Sarnatskaya V. V., Politshuk V. E. Metody kultury tkanej v fiziologii i biokhimii rastenij. K.: Naukova dumka, 1980. 488 s.
- Kunakh V. A. Biotekhnologiya likarskikh roslin. Genetichni ta fiziologo-biokhimichni osnovi. K.: Logos, 2005. 730 s.
- Kushnir G. P., Sarnatska V. V. Mikroklonalne rozmnozheniya roslin, teoriya i praktika. K.: Naukova dumka, 2005. 242 s.
- Murashige T. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture / T. Murashige, F. K. Skoog // *Physiol. Plant.* 1962. Vol. 15. R. 473—497.

Цитирование: Журжа Ю. В., Колдар Л. А. Морфогенетический потенциал эксплантов представителей рода *Rhamnus* L. *in vitro* // Hortus bot. 2017. Т. 12, 2017, URL: <http://hb.karelia.ru/journal/article.php?id=4365>. DOI: [10.15393/j4.art.2017.4365](https://doi.org/10.15393/j4.art.2017.4365)
Cited as: Zhurzha Y., Koldar L. A. (2017). Morphogenetic potential of explants *Rhamnus* L. genus representatives *in vitro* // Hortus bot. 12, 357 - 362. URL: <http://hb.karelia.ru/journal/article.php?id=4365>