

**Ж.А. Бородаева, С.В. Кулько, Л.А. Тохтарь, Н.Н. Ткаченко,
И.В. Петрова**

НОЦ «Ботанический сад НИУ «БелГУ», г. Белгород

Zh.A. Borodaeva, S.V. Kulko, L.A. Tokhtar, N.N. Tkachenko, I.V. Petrova

*Scientific and educational center "Botanical garden of Belgorod National
Research University", Belgorod*

E-mail: borodaeva@bsu.edu.ru

**ОСОБЕННОСТИ ВВЕДЕНИЯ В КУЛЬТУРУ *IN VITRO*
РАСТЕНИЙ ГЛИЦИНИИ КРУПНОКИСТЕВОЙ "BLUE MOON"
(*WISTERIA MACROSTACHYS* "BLUE MOON")**

**PECULIARITIES OF INTRODUCING *IN VITRO* CROPS OF PLANTS
OF *WISTERIA MACROSTACHYS* "BLUE MOON" (*WISTERIA
MACROSTACHYS* "BLUE MOON")**

Резюме: в работе рассматриваются особенности получения асептической культуры глицинии крупнокистевой сорта 'Blue moon' для дальнейшего массового микроклонального размножения. Особое внимание уделено подбору стерилизующих агентов и выбору типа эксплантов на этапе введения растений в культуру *in vitro*

Ключевые слова: *глициния, крупнокистевая, in vitro, микроразмножение, асептическая культура, биотехнология*

Summary: the paper discusses the features of obtaining an aseptic wisteria culture of the large-brush variety 'Blue moon' for further mass microclonal propagation. Particular attention is paid to the selection of sterilizing agents and the choice of the type of explants at the stage of introduction of plants into *in vitro* culture.

Key words: *wisteria macrostachys, in vitro, micropropagation, sterile culture, biotechnology*

Введение. Глициния крупнокистевая (*Wisteriamacrostachys*) – высокодекоративная лиана, которая используется в ландшафтных композициях как элемент вертикального озеленения. Самый зимостойкий сорт *W. macrostachys*–'Blue moon', получен в американском штате Миннесота и выдерживающий зимние морозы до – 38-40 °С. Цветки необычной формы лавандово-синего, светло-голубого, розоватого с фиолетовым отливом цвета с бледно желтым горлышком собраны в ароматные соцветия длиной от 15 до 30 см. Цветёт в июне, в июле отмечается повторное, менее обильное цветение. Листья глянцевые, темно-зеленые, сложные: из 7-9 пар листочков. Плоды коричневого цвета, собраны в стручки, напоминающие бобы. Глициния

успешно интродуцирована в Ботаническом саду Белгородского университета (НИУ «БелГУ») и может быть рекомендована для использования в вертикальном озеленении городских территорий и комплексном благоустройстве общественных пространств региона.

Размножение глицинии происходит в основном вегетативно – отводками, черенкованием, прививками, причем молодые растения плохо приживаются после пересадки, и образование новых побегов происходит чрезвычайно медленно [2], что осложняет и замедляет процесс ее промышленного воспроизводства. Метод *in vitro* позволяет повышать интенсивность размножения трудно размножаемых растений за счет применения фитогормонов, варьирования состава питательной среды и осуществления полного контроля за физическими параметрами, такими как освещенность и температура окружающего пространства.

Целью нашей работы была оптимизация методики введения эксплантов растений *W. macrostachya* 'Bluemoon' в культуру *in vitro* для дальнейшего массового микрклонального размножения.

Материалы и методы. Исследования проводились на базе лаборатории биотехнологии растений научно-образовательного центра «Ботанический сад НИУ «БелГУ» в течении вегетационного сезона 2017г. В работе применяли общепринятые методики введения растений в культуру *in vitro* [1] и собственную модифицированную схему многоступенчатой стерилизации. В качестве эксплантов были использованы зеленые черенки и спящие пазушные почки. Побеги освобождали от листьев, нарезали на сегменты, равные одному междоузлию. Растительный материал промывали хозяйственным мылом от грубого загрязнения. Затем на орбитальном шейкере при 200 оборотах в минуту экспланты проводили через ряд растворов: моющее средство Sorty (10 мин), 0,5% раствор перманганата калия (10 мин), 1% раствор фундазола (10 мин), после чего экспланты промывали дистиллированной водой. Следующий этап стерилизации выполняли в стерильных условиях ламинар-бокса. В качестве основных стерилизующих агентов были испытаны растворы лизоформина 3000 (5%), хлорамина-Б (5%) и бытового стерилизатора Белизна (50%). Время экспозиции в каждом стерилизаторе – 3 мин. После трехкратной промывки автоклавированной дистиллированной водой экспланты переносили в пробирки на стерильную питательную агаризированную среду MS [5] с добавлением 1 мг/л цитокинина 6-БАП и культивировали при 16-часовом фотопериоде, освещенности 2000 Лк, температуре 23 °С. Пассаж длился 4 недели. Учет проводился два раза в неделю.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием стандартного программного обеспечения Microsoft Excel (2010).

Результаты и их обсуждение. Наибольшее количество инфицированных эксплантов отмечалось при стерилизации зеленых черенков глицинии лизоформином – 40 % всех высаженных эксплантов (табл.).

Грибковое заражение было отмечено при 1 и 2 учетах. При последующих учетах отмечалось только проявление бактериального заражения.

Таблица 1 – Влияние стерилизующих агентов на эффективность стерилизации эксплантов глицинии крупнокистевой

Тип экспланта	Количество эксплантов, шт.						
	Всего	Стерильных		Жизнеспособных		Стерильных жизнеспособных	
		шт	%	шт	%	шт	%
	Лизоформин 5%						
Почки	30	21	70	12	40	9	30
Зеленые черенки	30	18	60	24	80	12	40
	Белизна 50%						
Почки	30	18	60	12	40	11	33
Зеленые черенки	30	24	80	24	80	13	43
	Хлорамин 5%						
Почки	30	21	70	6	20	3	10
Зеленые черенки	30	24	80	24	80	5	16

При стерилизации почек лизоформинном и хлорамином уровень стерильных эксплантов составил 70%, а раствором белизны – 60%, при равномерном распределении доли заражения: грибковым и бактериальном. Однако при использовании почек для введения в культуру *in vitro* была отмечена низкая выживаемость эксплантов: при использовании лизоформина и белизны – 40% и хлорамина – 20%. Был отмечен высокий процент гибели эксплантов непосредственно от обработки стерилизатором: количество полученных стерильных и жизнеспособных эксплантов находилось в диапазоне от 10% (при использовании хлорамина-Б) до 33% (при использовании белизны).

Выживаемость зеленых черенков была значительно выше, что, однако, не отразилось на показателях стерильности. При введении зелеными черенками жизнеспособными были 80% эксплантов во всех вариантах опыта, при этом из них лишь от 16 до 43% были стерильными.

При использовании в качестве эксплантов зеленых черенков наилучшие результаты были получены при использовании белизны и хлорамина: всего 20% эксплантов были инфицированы. При использовании лизоформина количество жизнеспособных эксплантов составило 80%, однако при этом стерильными были лишь 60%.

Рост и развитие у эксплантов был разным. Так при введении зелеными черенками прирост отмечен спустя 2 недели от начала опыта. А при введении почками начало роста эксплантов было отмечено спустя месяц.

Заключение. В ходе проведенного исследования установлено, что для введения глицинии в культуру *in vitro* предпочтительно брать зеленые черенки в качестве эксплантов. Анализ данных о жизнеспособности и стерильности введенных в культуру *in vitro* минирастений глицинии крупнокистевой позволяет заключить, что наиболее эффективными из изученных нами стерилизаторов являются белизна и хлорамин.

Список использованных источников

1. Бутенко Р.Г. Биология культивируемых клеток и биотехнология растений – М.: Наука. 1991. 278 с.

2. Джиева К.Э. Создание коллекции многолетних дикорастущих лиан – Студенческая наука – агропромышленному комплексу. Научные труды студентов Горского Государственного аграрного университета 2018 г. Издательство: Горский государственный аграрный университет (Владикавказ). 2018. С. 96-98.

3. Шитикова В. Н. Крымский стиль в вертикальном озеленении в конце XIX- начале XX веков – Строительство и техногенная безопасность: Научн.-техн. сборник.- Симферополь: НАПКС. 2011. Вып. 41. С. 10-14.

4. Эргашева Г.Н., Нимаджанова К.Н. Приспособление листопадных и вечнозеленых лиан к условиям городской и сельской среды – Доклады таджикской академии сельскохозяйственных наук. Издательство: Таджикская академия сельскохозяйственных наук. 2012. № 1 (31). С. 48-53.

5. Murashige, T. Skoog, F.A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures– *Physiologia Plantarum*, 1962. 15 (3). p. 473–497.