УДК 328

МИКРОКЛОНАЛЬНОЕ РАЗМНОЖЕНИЕ КРАСНОКНИЖНОГО РАСТЕНИЯ РОСТОВСКОЙ ОБЛАСТИ HEDYSARUM CRETACEUM FISCH

С.Д. Бакулин

Ботанический сад ЮФУ, Ростов-на-Дону, Россия

Сегодня помимо таких методов сохранения редких видов растений как создание коллекций, банков семян и органов, большой популярностью пользуется метод микроклонального размножения. Благодаря ему возможно за короткое время получить больше количество безвирусных растений-регенарнтов, используя всего один или несколько эксплантов. Благодаря своим преимуществам, данный метод является надежным и высокопродуктивным способом воспроизводства охраняемых видов растений.

Отсюда **целью работы** является поиск наиболее подходящей питательной среды для потенциального создания культуры растений *Hedysarum cretaceum* Fisch. в асептических условиях для сохранения генофонда популяций данного вида в нашем регионе.

Задачи исследования:

1) Подобрать наиболее эффективный способ стерилизации посадочного материала. 2) Выявить оптимальную концентрацию фитогормонов для пролиферации побегов *Hedysarum cretaceum* Fisch. 3) Провести статистический анализ коэффициента пролиферации побегов *Hedysarum cretaceum* Fisch. с учетом использования разных сред и фитогормонов в различных концентрациях. 4) Заложить опыт по изучению влияния различных концентраций ауксинов на степень ризогенеза растений *Hedysarum cretaceum* Fisch.

Объектом исследования является копеечник меловой – степной травянистый многолетник, облигатный меловик, имеющий в КК РО статус 1 а – вид, находящийся под угрозой исчезновения, в КК РФ – 3, редкий вид. Эндемик степной части бассейнов Дона и Волги. Семенная продуктивность высокая, однако, семенное размножение затруднено, так как семена обладают твердосемянностью, как и многие другие дикорастущие представители семейства бобовых [1–3].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании использовался семенной материал *Hedysarum cretaceum* Fisch., собранный на территории Питомника краснокнижных и исчезающих видов растений Ростовской области Ботанического сада ЮФУ. Исследование проводилось на базе лаборатории клеточных и геномных технологий растений Ботанического сада ЮФУ.

В качестве методик стерилизации и предпосевной обработки использовались следующие:

Скарификация семян нождачной бумагой с последующим промыванием их в спирте и сулеме в течение 3 и 2 минут соответственно. Затем производилась трехкратная промывка семян дистиллированной водой в течение 10 минут.

Промывание семян в дистиллированной воде в течение 15 минут с последующей обработкой 96 % спиртом (2 минуты) и обжигом в пламени горелки (1 сек.).

После проращивания производился пассаж растений на питательные среды Мурасиге-Скуга (MS) и Драйвера и Кинюки (DKW). Для пролиферации в среды добавлялся БАП в различных концентрациях, а также смесь БАП и ИУК. На этапе укоренения растений-регенрантов в среды вносились ИМК и ИУК. Также производилась закладка контрольных проб. В процессе исследования выявлялись такие показатели, как коэффициент пролиферации (среднее количество побегов на один эксплант), а также средняя длина и количество корней на растение. Значения коэффициента пролиферации растений на разных средах сравнивались между собой с помощью *t*-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Наиболее эффективной методикой стерилизации семян оказалась термическая, т. е. с промыванием их в спирте и обжигом в пламени горелки – стерильными оказались 87,5 % семян, где 20 % не проросли. Предположительно, это связано с тем, что зародыши были повреждены слишком высокими температурами пламени, так как известно, что кожура семян копеечников отличается меньшей толщиной по сравнению с семенами многих других представителей семейства бобовых [4]. Обжиг по всей видимости оказывает не только стерилизующий, но и скарифицирующий эффект. Скарификация нождачной бумагой привела к заражению 86 % семян.

Удалось выяснить, что эффективные концентрации гормонов для мультипликации побегов на средах MS и DKW составляют БАП 0,5 мг/л в сочетании с ИУК 0,1 мг/л. Эти данные согласуются с литературной информацией о том, что комбинации различных регуляторов роста часто обладают высоким синергическим действием [5,6]. При анализе данных было выявлено достоверное превышение коэффициента пролиферации по сравнению с контролем для следующих вариантов опыта: БАП 0,5, 1,0, 2,5 мг/л как отдельно, так и вместе с использованием ИУК 0,1 мг/л – в случае со средой MS; БАП 0,5 и 1,0 мг/л, а также для всех вариантов опыта с совместным использованием БАП и ИУК – в случае со средой DKW.

Средние значения коэффициента пролиферации при использовании среды DKW оказались выше по сравнению с таковыми для среды MS, однако достоверное превышение данного показателя при статистическом сравнении было установлено только для одного варианта опыта, где присутствовал лишь БАП в концентрации 1,0 мг/л. Скорее всего такие данные можно объяснить достаточно близкими значениями сравниваемых выборок. Исходя из вышесказанного, нельзя с полной уверенностью утверждать, что среда DKW действительно является более подходящей для пролиферации побегов *Hedysarum cretaceum* Fisch.

На текущем этапе исследования пока не удалось получить данных, отражающих степень корнеобразования растений-регенрантов на средах MS и DKW по причине того, что постановка эксперимента требует большего количества времени, чем было запланировано.

ВЫВОДЫ

Наиболее эффективной методикой стерилизации оказалась термическая обработка с использованием спирта в качестве обеззараживающего средства, а также пламени горелки, обладающего не только стерилизующим, но и скарифицирующим действием.

Наиболее эффективными концентрациями гормонов для мультипликации побегов на средах MS и DKW составили БАП 0,5 мг/л в сочетании с ИУК 0,1 мг/л.

Исходя из статистических данных среда DKW не является более подходящей для пролиферации побегов *Hedysarum cretaceum* Fisch. по сравнению со средой MS.

Данные по корнеобразованию растений-регенрантов исследуемого вида пока не были получены. Планируется продолжение исследования с дальнейшим анализом и оформлением результатов.

ЛИТЕРАТУРА

Красная книга Ростовской области / Министерство природных ресурсов и экологии Ростовской области: Издание 2-е. Ростов-на-Дону: Минприроды Ростовской области, 2014. – Т. 2. Растения и грибы. – 344 с.

Супрун Н.А. Копеечники (*Hedysarum* L.) Нижнего Поволжья: изменчивость и систематика – Дисс... кандидата биологических наук. – Москва, 2014. – 160 с.

Николаева М.Г., Разумова М.В., Гладкова В.Н. Справочник по проращиванию покоящихся семян. – Л.: Наука, Ленингр. отд., 1985. – 348 с.

Пономаренко С.Ф. Сем. Fabaceae // Сравнительная анатомия семян. Том 5. Двудольные. Rosidae I. – СПб.: Мир и семья, 1996. – С. 264–299.

Середа М.М., Козловский Б.Л., Луценко Е.В. Перспективная технология размножения платана испанского для зеленого строительства на юго-западе ростовской области // Инженерный вестник Дона. 2014. Т. 31, № 4-1. С. 9.

Cerovi R., Runic J. Micropropagation of sour cherry (*Prunus cerasus* L.) cv. Sumadinka // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 1987. Vol. 51, № 9. С. 157.