

## ПРИМЕНЕНИЕ КУЛЬТУРЫ *IN VITRO* ДЛЯ РАЗМНОЖЕНИЯ РЕДКИХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ.

**В.В. Французёнок, Т.В. Никонович**

*УО Белорусская государственная сельскохозяйственная академия, Беларусь*  
*[tvnikonovich@tut.by](mailto:tvnikonovich@tut.by)*

В настоящее время проблема сохранения видового разнообразия растительного мира является одной из наиболее актуальных.. За последние 100 лет под влиянием комплекса антропогенных факторов из состава флоры Беларуси выпало 46 видов аборигенных сосудистых растений.

В соответствии с Национальной стратегией и планом действий по сохранению и устойчивому использованию биологического разнообразия Республики Беларусь важную роль в сохранении видового разнообразия должны сыграть биотехнологические методы, основанные на клональном микроразмножении растений. Такие методы позволят быстро размножать и сохранить уникальные генотипы исчезающих видов, поддерживать их в коллекции *in vitro* и возвращать после адаптации в естественные условия обитания.

Целью наших исследований является изучение возможности применения культуры *in vitro* для размножения редкого вида флоры Беларуси - шпажника черепитчатого.

На этапе введения в культуру *in vitro*, в качестве источника эксплантов использовались взрослые клубнелуковицы и клубнепочки. Клубнелуковицы очищались от кроющих чешуй, тщательно промывались водой. Для получения стерильных эксплантов сравнивались два вида антисептиков: хлорамин «В» и гипохлорит кальция. Экспланты стерилизовались в течение 20 мин. Затем в условиях ламинара клубнелуковицы ополаскивались автоклавированной дистиллированной водой и высаживались в пробирки на питательную среду Мурасиге и Скуга с половинным содержанием макро- и микросолей (1/2 МС), дополненную 100 мг/л мезо-инозита, 30 г/л сахарозы, 7,0 г/л агара, рН=5,6-5,8. Использовались два варианта питательных сред: безгормональная и с добавлением фитогормонов 6-БАП 1 мг/л и НУК 0,1 мг/л.

Экспланты культивировались при температуре 22-24°C, длине дня 16 часов и освещенности - 1000 люкс. Через шесть недель от момента посадки проводился учет количества регенерировавших эксплантов, количества стеблей на одном экспланте, наличие корней, длина побегов.

Известно, что регенерационная способность эксплантов неодинакова в различное время года, поэтому при микроразмножении шпажника черепитчатого эксперименты проводились в два срока: весной (первая декада мая) и осенью (первая декада октября).

Как показали результаты исследований из двух антисептиков лучшим является гипохлорит кальция. При концентрации 5% стерильность составила в среднем 66,7%, а при концентрации 10% - 73,3, в то время как в вариантах с хлорамин «В» эти показатели были несколько ниже - 56,7% и 63,3, соответственно. При стерилизации эксплантов в 10%-ных растворах наблюдалась выраженная некротизация тканей, что отрицательно влияло в дальнейшем на регенерацию. Таким образом, лучшим вариантом стерилизации эксплантов клубнелуковиц шпажника является использование 5%-ного раствора гипохлорита кальция.

При введении в культуру *in vitro* клубнелуковиц в весенний период наблюдалась 100%-ная регенерационная способность эксплантов. Коэффициент размножения составил 1,8 на питательной среде, не содержащей гормоны, и 2,7 на питательной

среде, содержащей 6-БАП и НУК. При введении в культуру *in vitro* клубнелуковиц в осенний период регенерация была значительно ниже, по сравнению с весенним сроком. На безгормональной питательной среде она составила 72,1%, а на питательной среде, содержащей 6-БАП и НУК – 83,2%. На безгормональной питательной среде побеги были тонкими и слабыми, коэффициент размножения равен 1,0, то есть размножения как такового не происходило. На питательной среде с гормонами развивались более длинные и крупные стебли, однако их число на одном экспланте не превышало 2, а коэффициент размножения в среднем составил 1,6, что достоверно выше, чем на безгормональной питательной среде. Низкие коэффициенты размножения можно объяснить наличием периода покоя у клубнелуковиц шпажника, который в свою очередь обуславливается высокой концентрацией эндогенных гормонов-ингибиторов.

Полученные в культуре *in vitro* растения пересаживались на свежую питательную среду для изучения особенностей размножения шпажника на этапе «собственно микроразмножение». Использовались следующие составы питательных сред: ½ МС без гормонов и ½ МС, дополненная 1 мг/л 6-БАП и 0,1 мг/л НУК. Эксперимент проводился в два срока – в третьей декаде мая и первой декаде октября. При проведении эксперимента в мае способность растений к регенерации наблюдалась в обоих вариантах. Однако на безгормональной питательной среде образования адвентивных побегов не происходило (коэффициент размножения равен единице). В этом варианте растения укрупнялись и образовывались корни. На питательной среде содержащей фитогормоны результаты были более предпочтительными. Процент регенерации здесь равен 94,3, а коэффициент размножения в среднем - 2,2. В осенний срок проведения эксперимента способность микрорастений к пролиферации была гораздо ниже. На безгормональной питательной среде наблюдалось лишь образование покровных чешуй на клубнелуковичках. В последующем никаких ростовых или формообразовательных процессов не происходило, и клубнелуковицы впадали в состояние покоя. На питательной среде с фитогормонами регенерировало 86,6 % микрорастений, но коэффициент размножения в среднем составлял только 1,2.

Таким образом, при введении в культуру *in vitro* шпажника черепитчатого целесообразно в качестве антисептика использовать 5%-ый раствор гипохлорита кальция. Инициацию культуры и этап «собственно размножение» лучше проводить весной. Добавление в состав питательной среды 1 мг/л 6-БАП и 0,1 мг/л НУК позволяет повысить коэффициент размножения в 1,5 – 2 раза.