

УДК 631. 535

ВЛИЯНИЕ СРОКОВ ЧЕРЕНКОВАНИЯ И РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА НА
ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ ЧЕРЕНКОВ *SEQUOIADENDRON GIGANTEUM* (LINDL.) J.
BUCHHOLZ В УСЛОВИЯХ IN VITRO

М.С. Султонова, соискатель

К. Нимаджанова, доктор биологических наук, профессор
НИИ биотехнологии Таджикского аграрного университета им. Ш. Шотемура,
г. Душанбе

Ключевые слова: **черенки, жизнеспособность, экспланты, стерилизация, микроклональное размножение, гетероауксин**

Установлены оптимальные сроки черенкования секвойядендрона гигантского для их выращивания в условиях in vitro. Черенкование весной (март – май) способствует более длительному сохранению большего числа живых черенков. В качестве стимулятора для сохранения черенков можно рекомендовать раствор гетероауксина (0,02%).

THE INFLUENCE OF TIMING OF PROPAGATION BY CUTTINGS AND GROWTH
REGULATORS ON THE LIVING ABILITY OF CUTTINGS *SEQUOIADENDRON*
GIGANTEUM IN THE CONDITIONS IN VITRO

M. S. Sultanova, researcher

K. Nimadjanova, doctor of biological science, professor

Key words: **cuttings, living ability, explants, sterilization, microclon multiplying, heteroauxin**

Setting to optimal dates of propagation by cuttings Sequoiadendron giganteum for their cultivation in the conditions in vitro. turned out that the cuttings in spring contributes to a more long preservation of a large number alive cuttings. As a stimulant for storing large amounts alive cuttings for longer time, we can recommend a solution of heteroauxin (0.02%).

Микроклональное размножение растений является одним из перспективных направлений развития науки XXI столетия.

Среди основных преимуществ микроклонального размножения перед традиционным вегетативным способом является высокий коэффициент размножения, расширение сезонности выполняемых работ, возможность работать круглый год и планировать выпуск растений к определенному сроку.

Помимо этого, микроклональное размножение растений даёт возможность размножать и укоренять те растения, которые совсем не размножаются или плохо размножаются обычными способами, например, быстрое клональное размножение взрослых лесных деревьев, особенно хвойных [1].

Микроклональному размножению посвящены работы ряда авторов. В частности, по данным В.Н. Ненюхина [2], О.А. Тимофеевой, Ю.Ю. Невмержицкой [3], на процесс получения микроклонов влияет сезон года. В.Г. Лебедев и К.А. Шестибратов [4] разработали методику клонального размножения сосны обыкновенной из двухнедельных проростков. Технология регенерации in vitro, разработанная во Франции для секвойи вечнозеленой, является примером практического использования микроразмножения в селекционном разведении хвойных пород

[5]. Наиболее изученными в культуре *in vitro* являются такие виды, как ель обыкновенная (*Picea abies*), сосна обыкновенная (*Pinus silvestris*), четыре вида тиса [6].

Секвойядендрон – дерево, имеющее большой спрос для озеленения и декоративного оформления парков и скверов в Таджикистане – характеризуется пониженной регенерационной способностью как в естественных условиях, так и в культуральной среде. В связи с этим особый интерес представляют работы, направленные на создание технологии вегетативного и микрклонального размножения секвойядендрона для получения нужного количества посадочного материала.

В связи с тем, что ризогенез секвойядендрона гигантского в условиях *in vitro* происходит длительное время, необходимо выбрать наиболее оптимальные варианты сохранения живых черенков на длительные сроки.

Наши исследования по определению жизнеспособности черенков секвойядендрона гигантского при их выращивании в условиях *in vitro* были проведены в лаборатории НИИ биотехнологии Таджикского аграрного университета. Для этого нами были разработаны искусственные питательные среды на основе среды Мурасиге-Скуга и подобрана наиболее эффективная среда для данной породы.

На первом этапе наших опытов проводили стерилизацию материала следующим образом: экспланты обрабатывали в течение 5 мин 75%-м этиловым спиртом, затем промывали 3-5-кратно по 2 мин стерильной дистиллированной водой.

В качестве первичных эксплантов использовали верхушечные сегменты стебля исследуемого секвойядендрона гигантского различных размеров (от 0,3 до 3,0 см). Готовый растительный материал помещали в пробирки с питательной средой и ставили в культуральную комнату.

Для выращивания эксплантов использовали питательную среду по прописи Мурасиге-Скуга, а в качестве физиологически активных веществ были использованы реагенты (2,4-Д, НУК, гетероауксин), взятые в различных концентрациях.

В различные сезоны года нами было отобрано по 100 шт. черенков секвойядендрона гигантского, которые помещали в пробирки с искусственной питательной средой и ставили их в светотрон.

С целью выявления наиболее оптимальных сезонов взятия черенков для вегетативного размножения секвойядендрона гигантского в условиях *in vitro* проводилось значительное число опытов в различные сезоны года.

Таблица 1

Длительность сохранения жизнеспособности черенков секвойядендрона гигантского в условиях *in vitro* (светотрон)

Дата посадки	Число черенков	Размер, см	Длительность жизнеспособности черенков, дней
01.10.09	По 100 шт. при каждой посадке	3	28
08.10.09		2	5
22.10.09		1	51
12.11.09		0,3-0,4	89
11.02.10		0,3-0,5	47
28.04.10		0,4-0,5	28

Результаты наблюдения показали, что длительность сохранения жизнеспособности черенков секвойядендрона гигантского в условиях *in vitro* в светотроне зависит от сроков

черенкования. Более продолжительно сохранялись черенки, взятые поздней осенью (12.11.2009). Эти черенки проявили свою жизнеспособность в течение 89 дней, тогда как черенки, взятые в середине осени (8.10.2009) сохранили свою жизнеспособность всего в течение 5 дней (табл. 1).

В этих опытах наибольшее количество живых черенков секвойядендрона гигантского сохранилось при весеннем и зимнем сроках черенкования. Черенкование в первой декаде сентября нежелательно, т.к. выживает всего 20-33%, а при черенковании в конце осени 73,3% черенков оказались жизнеспособными. При весеннем черенковании до 86,7, а зимой – до 83,3% черенков сохраняли свою жизнеспособность.

Следовательно, для секвойядендрона гигантского наиболее благоприятными являются весенние сроки черенкования (табл. 2).

Таблица 2

Жизнеспособность черенков секвойядендрона гигантского в условиях in vitro, взятых в различные сезоны года

Дата черенкования	Дата наблюдения	Количество живых черенков, %	Сезон года
11.03.10	13.05.10	80,0	Весна
28.04.10	26.05.10	78,8	
21.05.09	12.06.09	86,7	
01.10.09	19.11.09	20,8	Осень
08.10.09	03.12.09	33,3	
22.10.09	09.02.10	73,3	
12.11.09	30.03.10	66,7	
11.02.10	30.03.10	83,3	Зима

С целью повышения жизнеспособности черенков секвойядендрона гигантского и их эффективного размножения был испытан ряд физиологически активных веществ, в частности, 2,4-Д, НУК, гетероауксин в различных концентрациях. Основой питательной среды была искусственная среда Мурасиге-Скуга.

Таблица 3

Влияние гормонов на жизнеспособность черенков секвойядендрона гигантского в условиях in vitro

Вариант	Дата черенкования	Количество живых черенков, %			
		10.11.11.	23.11.11	28.02.12	13.03.12
3 мг/л 2,4-Д	27.10.11	71.4	71.4	57.1	Пожелтели
5 мг/л 2,4-Д		71.4	71.4	57.1	
3 мг/л 2,4-Д+ 0,5 мг/л НУК		50.0	50.0	25.0	

Результаты исследования по влиянию 2,4-Д и НУК на жизнеспособность черенков показали, что высокие результаты получены у черенков секвойядендрона гигантского при добавлении в питательную среду Мурасиге-Скуга раствора 2,4-Д в концентрации 3 и 5 мг/л. При совместном внесении 3 мг/л 2,4-Д и 0,5 мг/л НУК жизнеспособность черенков секвойядендрона гигантского снизилась (табл. 3).

Для более длительного сохранения жизнеспособности черенков и для дальнейшего процесса ризогенеза была проведена серия опытов, где в различные сроки черенкования

испытывалось воздействие раствора гетероауксина различных концентраций (0,005; 0,01; 0,02%). Черенки секвойдендрона гигантского были взяты в различные сроки (табл. 4).

Результаты показывают, что оптимальной концентрацией гетероауксина для продления жизнеспособности черенков является 0,02%. Однако положительное влияние данной концентрации гетероауксина отмечается только в варианте черенкования в октябре. Во всех трёх сроках октябрьского черенкования, по сравнению с контролем, под влиянием гетероауксина (0,02%) сроки сохранения жизнеспособности черенков удлиняются от двух до нескольких раз (см. табл. 4). При черенковании в другие сроки, в частности в ноябре, феврале и апреле, гетероауксин не оказывает влияния на длительность сохранения жизнеспособности, результат остаётся на уровне контрольных вариантов. При проведении черенкования в середине ноября отмечается верхушечный рост черенков как в контрольном варианте – без гетероауксина, так и в варианте, содержащем раствор гетероауксина (0,02%). Причём прирост в обоих вариантах одинаков и составляет 0,2 см (см. табл. 4).

Таблица 4

Влияние гетероауксина (0,02%) на продолжительность жизни и рост черенков секвойдендрона гигантского в условиях *in vitro* (светотрон)

Вариант	Дата посадки	Число черенков	Размер, см	Длительность жизни черенков, дней	Прирост черенков, см
Контроль Гетероауксин	01.10.09	Взято по 100 черенков в каждом варианте	3	28 64	
Контроль Гетероауксин	08.10.09		2	5 66	
Контроль Гетероауксин	22.10.09		1	51 110	
Контроль Гетероауксин	12.11.09		0,3-0,4	89 89	0,2 0,2
Контроль Гетероауксин	11.02.10		0,3-0,5	47 47	
Контроль Гетероауксин	28.04.10		0,4-0,5	28 28	

Исследовано влияние гетероауксина различной концентрации и на сохранение жизнеспособности черенков в условиях *in vitro* весной, осенью и зимой. Названные физиологически активные вещества были испытаны на фоне искусственной питательной среды Мурасиге-Скуга.

В качестве контроля использовали питательную среду Мурасиге-Скуга без добавления гормонов. В опытных вариантах исследовался гетероауксин в следующих концентрациях: 0,005; 0,01; 0,02%. Результаты, представленные в табл. 5, показывают, что эффективность гетероауксина очень незначительна при всех сроках черенкования.

Таблица 5

Влияние гетероауксина (0,02%) на сохранение жизнеспособности черенков секвойдендрона гигантского в условиях in vitro в различные сезоны года (светотрон)

Вариант	Дата черенкования	Дата наблюдения	Количество живых черенков, %	Сезон года
Контроль	21.05.09	12.06.09	86,7	Весна
Гетероауксин			90,0	
Контроль	28.04.10	26.05.10	78,8	
Гетероауксин			81,3	
Контроль	11.03.10	13.05.10	80,0	Осень
Гетероауксин			85,0	
Контроль	22.10.09	09.02.10	73,3	
Гетероауксин			93,3	
Контроль	12.11.09	30.03.10	66,7	Зима
Гетероауксин			66,7	
Контроль	11.02.10	30.03.10	83,3	
Гетероауксин			87,5	

Таким образом, можно сделать заключение, что для эффективного размножения черенков наиболее оптимальным сроком черенкования секвойдендрона гигантского и их выращивания в условиях in vitro является весна. Черенкование в этом сезоне способствует более длительному сохранению большего числа живых черенков.

Во все сроки черенкования благоприятное влияние оказывает раствор гетероауксина в концентрации 0,02%, поэтому данную концентрацию этого реагента можно рекомендовать как стимулятор для сохранения большего количества живых черенков на более длительное время.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Тимофеева И.В. Опорный конспект лекций по дисциплине «Биотехнология растений». – Павлодар, 2009. – С. 6.
 2. Ненюхин В.Н. Рост и плодоношение клонов сосны на лесосеменных плантациях первого порядка // Лесн. хоз-во. – 1997. – №2. – С. 36-38.
 3. Тимофеева О.А., Невмержицкая Ю.Ю. Клональное микроразмножение растений: учеб.-метод. пособие. – Казань: Казан. ун-т, 2012. – С. 22.
 4. Лебедев В.Г., Шестибратов К.А. Органогенез сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) в культуре in vitro // Хвойные бореальной зоны. – 2012. – №1-2. – С. 114-119.
 5. Путехин В.П., Мачке Й., Эвальд Д. Успехи современной биологии. Т. 111: Отд. оттиск. – М., 1991. – С. 137,139.
 6. Каллусогенез и получение суспензионных культур клеток четырех видов тиса: *Taxus Canadensis*, *T. baccata*, *T. cuspidate* и *T. Media* / Е.Б. Глоба, Е.В. Демидова, В.В. Туркин [и др.] // Биотехнология. – 2008. – № 3. – С. 54-59.
- логическую практику.