

КЛОНАЛЬНОЕ МИКРОРАЗМНОЖЕНИЕ ДЕКОРАТИВНЫХ ВОДНЫХ РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТВ AMARANTHACEAE JUSS. И ACANTHACEAE JUSS. ДЛЯ АКВАРИУМОВ

КОНСТАНТИНОВ Андрей Вячеславович, *мл. научный сотрудник*

Институт леса Национальной академии наук Беларуси

КАРУНОС Артур Сергеевич, *магистрант*

Полесский государственный университет

ГРИЩЕНКО Илья Владимирович, *студент*

Гомельский государственный университет имени Ф.Скорины

Получение стерильных культур и культивирование микрорастений в условиях *in vitro* является наиболее широко используемым способом сохранения вегетативно размножаемых растений, обладающих всеми признаками исходных форм в контролируемых условиях среды [1].

Культура *in vitro* водных растений и гидрофитов позволяет сохранять надежную изоляцию растений, освобождать их от присутствия низших растений, моллюсков и бактериальной контаминации. Высокие коэффициенты размножения растений достигаются за счет введения в питательные среду регуляторов роста и устранения действия экстремальных абиотических факторов среды, связанных с выращиванием растений в погруженном состоянии и воде с неподходящими показателями жесткости, кислотности, температуры [2, 3]. Особая компактность пробирочной коллекции удобна для коммерческой реализации и обмена материалом между коллекциями. Биотехнологические методы на основе культур *in vitro* имеют широкое практическое применение и активно используются для производства посадочного материала декоративных культур, включая аквариумные растения, во многих странах мира (Голландия, Нидерланды, Франция, Китай, США и др.), где созданы крупные биотехнологические центры [4].

Альтернантера Рейнеки (*Alternanthera reineckii* Griseb.) – это неприхотливое аквариумное растение семейства Амарантовые (Amaranthaceae Juss.) Листья длиной 2-3 см и шириной около 1-1,5 см., разнообразной окраски от розовой до блестяще красной. Другие формы более декоративны: имеют крупные листья, разнообразную окраску и формирует цветочные пятна, при регулярной стрижке образует густые заросли.

Стаурогин ползучий (*Staurogyne repens* (Nees) Kuntze.) относится к семейству Акантовые (Acanthaceae Juss.), размер его листа около 2-4 см в длину и 1-1,5 см в ширину, длина побегов обычно не превышает 10 см. Растение не требовательно к условиям содержания, специальной стрижке и относится к почвопокровным видам. Скорость роста – средняя.

Цель исследований состояла в изучении возможностей поддержания стабильной культуры в коллекции *in vitro*, клональном микроразмножении и акклиматизации регенерантов двух видов декоративных аквариумных растений к нестерильным условиям *ex vitro*.

Культивирование растений *in vitro* проводили по стандартным методикам в условиях культуральной комнаты при температуре $24 \pm 2^\circ\text{C}$ и постоянном освещении интенсивностью 2,0–3,0 тыс. люкс и адаптационного помещения при температуре $22 \pm 3^\circ\text{C}$ и освещении интенсивностью 3,0–4,0 тыс. люкс и фотопериодом 16/8 ч. Развитие растений оценивали по показателю длины побега (см), коэффициенту мультипликации и эффективности укоренения, учитывали приживаемость регенерантов при акклиматизации.

Среди существующих методов клонального микроразмножения растений, прямая регенерация характеризуется как наиболее надежный способ в отношении генетической стабильности размножаемых форм, универсальностью для определенных растений, высоким коэффициентом размножения и повторяемостью результатов, что делает его основным при промышленном производстве посадочного материала. Пролиферация пазушных побегов, основанная на снятии апикального доминирования, позволяет поддерживать рост растений круглый год, тиражировать трудноразмножаемые растения и в кратчайшие сроки получить большое количество растений при ограниченном количестве исходного материала. Лучшими индукторами регенерационных процессов на стадии собственно размножения является использование в составе основной питательной среды определенных концентраций цитокининов.

Получение побегов экспериментальных растений нормальных пропорций и последующее их деление на двух- трехузловые микрочеренки, которые используются в качестве эксплантов для повторения цикла размножения осуществляли на средах, приготовленных по прописи MS (Murashige T. & Skoog S., 1962.), дополненных регуляторами роста цитокининовой (6-BAР, $0,5 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$) и ауксиновой (NAA, $0,1 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$) природы. Продолжительность пассажа составляла 60 суток. По прошествии указанного периода средняя длина основного побега микрорастений альтернантеры и стаурогина составляла $6,4 \pm 2,5$ см и $5,7 \pm 1,4$ см соответственно, коэффициент мультипликации в культуре *in vitro* за счет интенсивного формирования боковых побегов для альтернантеры составлял 6-10 шт. эксплантов на 1 растение. Для стаурогина указанный показатель находился в пределах 4-7 шт. на 1 растение. Повышение концентрации 6-BAР в питательной среде до $1,0 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ приводило к заметному угнетению ростовых процессов (снижение средних показателей длины побега в 1,2-1,6 раз), витрификации материала и формированию базального каллуса у регенерантов.

В связи с вышеописанным, теоретическая возможность размножения аквариумных растений изучаемых видов составляет до 1 млн. побегов из одного побега в год, при условии, что за два месяца можно получить один побег, дающий 10 микрочеренков, что позволяет рассматривать указанные растения как перспективные для развития производства орнаментальных растений для домашних аквариумов.

Коллекции растений *in vitro* можно длительно хранить в состоянии активного или замедленного роста. Для *Alternanthera reineckii* Griseb. и *Staurogyne repens* (Nees) Kuntze. отмечено, что после 3 месяцев культивирования происходит существенное ухудшение состояния микропобегов, проявляются отмирание листьев и укорачивание метамеров. Продолжительность беспересадочной культуры была повышена до 6-8 месяцев путем стерильного (в ламинар-боксе) внесения в культуральные сосуды 50 мл дистиллированной воды или жидкой питательной среды MS без фитогормонов, что предотвращало высыхание агара.

Завершающим этапом клонального микроразмножения является акклиматизация микрорастений к почвенным условиям. Постепенный перевод микроклонов к погруженному выращиванию на последнем пассаже *in vitro* осуществляли путем внесения 100 мл водопроводной воды в культуральные сосуды со сформированными растениями за 7 суток до пересадки для предадаптации. Высадку укорененных и подготовленных регенерантов стаурогина и альтернантеры проводили в пластиковые горшочки объемом 100-150 мл в низинный торф, досыпая сверху 1-1,5 см слой крупного речного песка для удерживания субстрата и погружая горшочки в емкости с водопроводной водой. Приживаемость экспериментальных растений изучаемых видов после 1 месяца культивирования достигала 96-100%. Отмечали элонгацию главного и боковых побегов растений, форми-

рование новых метамеров и корневых систем саженцев. Успешность перехода к росту в погруженном состоянии подтверждало развитие более широких и относительно тонких листовых пластинок, характерных и для растений, выращиваемых в аквариумах.

Таким образом, изучение морфогенетических процессов аквариумных растений альтернантеры и стаурогина на этапе собственно размножения позволили разработать унифицированную методику тиражирования микроклонов и саженцев декоративных водных растений. Разработан двухстадийный прием акклиматизации растений-регенератов к условиям выращивания *ex vitro* с использованием приема преадаптации. Экономический эффект использования методов биотехнологии достигается за счет возможности получения высоких коэффициентов размножения декоративных водных растений изученных видов.

Список использованных источников

1. Kane, M.E. Micropropagation of the aquatic plant *Cryptocoryne lucens* / M.E. Kane, E.F. Gilman, M.A. Jenks, T.J. Sheehan // Hort. Science. – 1990. – Vol. 25. – P. 687-689.
2. Huang, L. Rapid *in vitro* multiplication of the aquatic angiosperm, *Anubias barteri* var. *undulate* / L. Huang, Y. Chang, Y. Chang // Aquat. Bot. – 1994. – Vol. 47. – P. 77-83.
3. Öztürk, M. *In vitro* Micropropagation of the aquarium plant *Ludwigia repens* / M. Öztürk, K.M. Khawar, H.H. Atar, C. Sancak, S. Özcan // Asia Pacific J. of Mol. Bio. and Biotech. – 2004. – Vol.12. – P. 21-25.
4. Pierik, R.L.M. Developments in the micropropagation industry in The Netherlands. Plant Tissue Cult. and Biotech. – 1997. – Vol. 3. – P. 152-153.