УДК 581.143.6

Е.П. Емельянова

Влияние ауксинов на укоренение *in vitro* сортов *Vaccinium uliginosum* L.

E.P. Emeljanova

Auxins Influence on *in vitro* Rooting of Varieties *Vaccinium Uliginosum* L.

В статье описано влияние на процесс укоренения *Vaccinium uliginosum* L. таких ауксинов, как β-индолилуксусная кислота, β-индолилпропионовая кислота, β-индолилмасляная кислота. Для каждого сорта были подобраны оптимальные тип и концентрация ауксинов, обеспечивающие лучшее укоренение *in vitro*.

Ключевые слова: микроразмножение, *Vaccinium uliginosum* L., ризогенез, ауксины, *in vitro*.

Голубика топяная (Vaccinium uliginosum L.) — сравнительно недавно введенная ягодная культура, представляет собой ценность как пищевой продукт и лекарственное сырье. Для выращивания голубики подходят сильнокислые (рН 3,5–5,0) торфяные почвы, считающиеся малопригодными для сельского хозяйства без дорогостоящей мелиорации. Размножение in vitro может быть применено как в селекционной работе для ускоренного размножения новых гибридов, так и при крупномасштабном размножении отобранных ценных форм этой перспективной для сибирского региона ягодной культуры.

Широкому распространению этой новой ягодной культуры препятствует низкая продуктивность традиционного размножения зеленым черенкованием. Использование биотехнологических подходов позволяет решить данную проблему, а метод клонального микроразмножения позволяет получить до сотен, тысяч и даже миллионов растений в год с одного растения [1, с. 104].

Важным этапом клонального микроразмножения является укоренение микропобегов *in vitro*. Поскольку каждый вид и сорт растений предъявляет свои требования к условиям культивирования, цель работы — изучение влияния регуляторов роста на ризогенез *in vitro* сортов голубики топяной.

Работа была выполнена в лаборатории биотехнологии растений Алтайского государственного университета в 2009–2010 гг.

Объект исследования – четыре сорта голубики топяной: Иксинская, Шегарская, Юрковская и Дивная, селекции ЦСБС СО РАН (Новосибирск). Данные

The article describes influence of such auxins as IAA, PKI, IMC on Vaccinium uliginosum L. rooting. The best type and concentration of the auxins providing the best in vitro rooting for each variety were chosen.

Key words: micro-propagation, *Vaccinium uligino-sum* L., rhizogenes, auxinsis, *in vitro*.

сорта внесены в Государственный реестр Российской Федерации и рекомендованы для выращивания во всех регионах России.

Методика работы основывалась на общепринятых классических приемах работы с культурами изолированных тканей и органов растений. В качестве эксплантов использовали микрочеренки с 1–2 пазушными почками и верхушки микропобегов. Укоренение полученных на этапе собственно размножения побегов голубики топяной проводили на агаризованной среде с минеральным составом по прописи Андерсона (А), дополненной L-глутамином 200 мг/л и ауксинами. В качестве индукторов ризогенеза были использованы ауксины: β-индолилмасляная кислота (ИМК), β-индолилпропионовая кислота (ИПК), β-индолилуксусная кислота (ИУК). Культивирование на всех этапах осуществляли в конических колбах объемом 250 мл. Продолжительность пассажа составляла 40-45 суток. Экспланты культивировали в следующих условиях: фотопериод – 16/8 часов свет/ темнота, освещенность – 2-3 клк или в термостате, температура – 24±1 °C.

Учитывали следующие показатели: коэффициент размножения как количество развившихся побегов у одного экспланта (шт./экспл.), длина побегов (мм), количество пазушных почек (шт.), количество корней (шт.), длина главных корней (мм), наличие вторичных корней и каллуса (+, -).

Важным этапом при получении растений-регенерантов является укоренение микропобегов *in vitro*. Плохо развитая корневая система в последующем отрицательно отражается на способности растений адаптироваться и выживать в условиях *in vitro*.

На процессы ризогенеза влияет эндогенное соотношение ауксинов и цитокининов. Специфичность растений в отношении реакции на ауксины разного химического строения определяется различиями по способности поглощать и метаболизировать эти соединения. Кроме того, строение ауксинового рецептора у растений может быть несколько различным [2, с. 204].

Нами было изучено влияние различных ауксинов: β -индолилмасляная кислота в концентрациях 5, 10, 15 мкМ; β -индолилпропионовая кислота в концентрациях 5, 10, 15 мкМ; β -индолилуксусная кислота в концентрациях 2, 3, 4, 5, 10, 15 мкМ на укоренение и характеристики полученных регенерантов.

Из всех ауксинов наиболее часто для стимуляции ризогенеза применяют β-индолилмасляную кислоту. Этот ауксин оказался эффективным для укоренения таких ягодных культур, как *Vaccinium corymbosum*, *Fragaria* х *ananasa*, *Grossularia* и многих других [3, c. 145; 4, c. 97].

Для всех сортов голубики топяной наибольший выход укорененных регенерантов наблюдали на среде А при концентрации β-индолилмасляной кислоты 10 мкМ (табл. 1). Из сортов Юрковская и Дивная укоренялось более половины растений (64–78%), но процент укоренения для сортов Иксинская и Шегарская не превышал 35–40%.

Другие ауксины (β-индолилуксусная, β-индолилпропионовая кислоты) для стимулирования ризогенеза используются реже, но также могут быть эффективными. β-индолилуксусная кислота является более быстродействующим ауксином и был применен для всех сортов. На основании показателей роста и развития регенерантов голубики топяной следует, что лучшим индуктором ризогенеза из использованных ауксинов для сортов Шегарская, Дивная и Юрковская является β-индолилуксусная кислота. Оптимальные ее концентрации, обеспечивающие и ризогенез, и разви-

тие регенерантов, различны для каждого сорта (рис. 1). Так, сорт Дивная укоренялся при всех испытанных концентрациях β -индолилуксусной кислоты (табл. 2). Но такие показатели, как длина побега и количество почек на побеге, при увеличении концентрации ауксина уменьшались. Наилучшие показатели регенерантов отмечены на средах A с 2 и 3 мкМ β -индолилуксусной кислоты: микропобеги имели хорошее развитие и сформированную корневую систему.

Сорт Юрковская укоренялся на 100% на среде А с высоким содержанием β-индолилуксусной кислоты (10 мкМ). Дальнейшее увеличение концентрации данного ауксина до 15 мкМ ингибировало процессы ризогенеза и приводило к гибели регенерантов.

Сорт Шегарская имел 100%-ное укоренение в присутствии 3, 4, 5 мкМ β-индолилуксусной кислоты через 1,5–2 месяца культивирования. При дальнейшем увеличении ее концентрации происходило угнетение корнеобразования и развитие каллуса.

При использовании β-индолилуксусной и β-индолилмасляной кислот были отмечены общие закономерности. Использование этих ауксинов в относительно больших концентрациях (15 мкМ) стимулировало развитие каллуса на базальной части побегов и не приводило к развитию корней.

Нами был испытан ауксин β-индолилпропионовой кислоты (рис. 2), близкий по своему действию с β-индолилмасляной кислотой. Наибольший процент укоренившихся побегов сорта Иксинская (77%) был получен через 1,5 месяца культивирования на среде А, дополненной 10 и 15 мкМ β-индолилпропионовой кислоты. Растения-регенеранты, полученные на данных средах, отличались лучшими показателями роста и развития: на побегах формировалось большее количество листьев относительно более крупного размера. Корневая система при этом была более развита.

Таблица 1 Характеристики регенерантов *Vaccinium uliginosum*, укорененных на среде $A+\beta$ -индолилмасляная кислота 10 мкМ через месяц культивирования (n = 20)

Сорт	Укоренение, %	Количество корней, шт. / экспл.	Длина корней, мм
Иксинская	40	2–3	3–4
Шегарская	35	2–3	4–6
Юрковская	78	3–7	5–7
Дивная	64	5–10	4–6

Таблица 2 Влияние ауксинов на рост и развитие регенерантов *Vaccinium uliginosum* сорта Дивная

Ауксин, мкМ	n	Количество корней, шт. / экспл.	Средняя длина корней, мм	Длина побега, мм	Количество почек, шт. / экспл.
ИПК 5	10	$5,3 \pm 1,6$	$8,3 \pm 1,4$	$35,6 \pm 6,3$	11,0 ± 1,4
ИПК 10	13	$4,2 \pm 1,0$	$7,5 \pm 1,0$	$20,8 \pm 5,3$	7.8 ± 0.9
ИУК 2	16	$5,6 \pm 0,8$	$6,8 \pm 1,1$	$39,6 \pm 5,1$	$11,2 \pm 1,3$
ИУК 3	14	$5,7 \pm 1,0$	$4,2 \pm 0,5$	$37,5 \pm 3,9$	12,3 ±0,7
ИУК 10	10	$4,0 \pm 0,8$	$6,3 \pm 2,0$	$17,3 \pm 4,9$	$7,1 \pm 1,3$

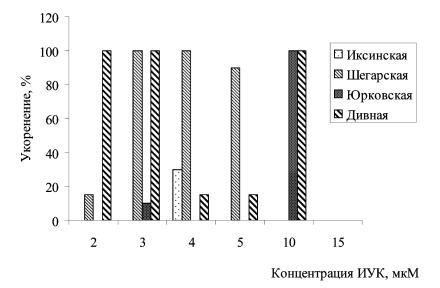


Рис. 1. Влияние концентрации β-индолилуксусной кислоты на укоренение сортов Vaccinium uliginosum

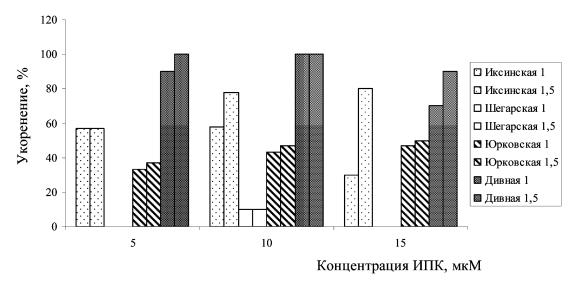


Рис. 2. Влияние концентрации β-индолилпропионовой кислоты и периода культивирования на укоренение сортов *Vaccinium uliginosum* (1–1,5 месяца)

Использование β-индолилпропионовой кислоты в качестве индуктора корнеобразования оказалось менее эффективным для сорта Шегарская, так как укоренение не превышало 40–56% и побеги были невысокими с меньшим количеством почек.

Для сокращения периода укоренения в дальнейших исследованиях были использованы микропобеги с уже укорененных регенерантов голубики топяной. Такой прием обеспечил высокий процент укоренения, например, для стевии (Stevia rebaudiana) [5, с. 25]. Фрагменты побега с парой пазушных почек помещали на питательную среду для стимуляции ризогенеза, а затем вновь развившиеся побеги делили на микрочеренки для рекультивирования. Так, при культивировании эксплантов голубики топяной с укорененных регенерантов на

среде A с β-индолилмасляной кислотой, у сорта Дивная первые корни появлялись уже через 10 дней.

Таким образом, для укоренения сортов *Vaccinium uliginosum* первостепенное значение имеют тип и концентрация ауксинов. Лучшими индукторами ризогенеза *Vaccinium uliginosum* для сорта Шегарская является β-индолилуксусная кислота в концентрации 3 мкМ, сорта Дивная — в концентрации 3 мкМ, сорта Юрковская — в концентрации 10 мкМ. Для сорта Иксинская лучшим индуктором ризогенеза оказалась β-индолилпропионовая кислота в концентрации 10 мкМ.

Наибольшее количество укорененных микропобегов *Vaccinium uliginosum* может быть получено при использовании эксплантов с укорененных *in vitro* регенерантов.

Библиографический список

- 1. Попович Е.А. Влияние экзогенного цитокинина на жизнеспособность эксплантов голубики высокой *in vitro* // Физиол. растений. 1997. Т. 44, №1.
- 2. Гамбург К.З., Рекославская Н.И., Швецов С.Г. Ауксины в культурах тканей и клеток растений. Новосибирск, 1990
- 3. Cohen D. Application of micropropagation methods for blueberries and tamarilles // Combined proceedings
- of international plant propagators society. 1980. №30.
- 4. Вечернина Н.А. Методы биотехнологии в селекции, размножении и сохранении генофонда растений. Барнаул, 2004
- 5. Вечернина Н.А., Тварткиладзе О.К., Эрст А.А. Ускоренное размножение голубики топяной *in vitro* // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 2008. №1 (44).