

Traditional selection enriched with a new high-tech method of creating raw material, based on tissues and plants organs cultivated *in vitro*. Genetic changes occurring in cultured *in vitro* cells and regenerated from them plants allow improving existing varieties. Cultivating somatic cells *in vitro* extends the possibility of increasing the frequency and spectrum of mutations. Somaclonal variability, which is the source of useful genetic variations, will allow selecting *in vitro* new plant forms, with such valuable economic characteristics, as increased yield, high content of useful substances, resistance to stress factors.

Key words: somatic mutations, somaclonal variability *in vitro*, somaclones, somaclonal variants, callus, gemogenesis, selective media.

УДК 635.9:578:58.5

doi: 10.31360/2225-3068-2018-66-120-125

ОСОБЕННОСТИ АДАПТАЦИИ *LILIUM CAUCASICUM* (MISCZ.) GROSSH. К УСЛОВИЯМ *EX VITRO*

Маляровская В. И., Самарина Л. С.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Всероссийский научно-исследовательский институт цветоводства и субтропических культур»,
г. Сочи, Россия, e-mail: malyarovskaya@yandex.ru

Изучено влияние биопрепаратов нового поколения (НВ-101, циркона, эпина, планта) на этапе адаптации к условиям *ex vitro* луковиц *Lilium caucasicum* (Miscz.) Grossh. (= *Lilium martagon* L.). Установлено, что наилучшее развитие луковичек по таким биометрическим показателям, как длина и количество корней, длина листьев, размер и масса луковичек, а также приживаемость растений отмечена на субстратах, обработанных плантом (2,5 г/л) – 92,1 % и эпином (0,5 мл/л) – 94,6 %. Наименьшие биометрические показатели, на уровне контроля, были получены на субстрате, обработанном биопрепаратом НВ-101, приживаемость растений на нем была на 2,2 % ниже, чем в контроле.

Ключевые слова: *Lilium caucasicum*, культура *in vitro*, биопрепараты, адаптация растений, биометрические показатели, приживаемость.

Метод биотехнологии, базирующийся на культивировании изолированных органов, тканей и клеток растений является одним из эффективных способов решения вопросов сохранения биологического разнообразия, поскольку имеет преимущества перед традиционно используемыми подходами. В ФГБНУ ВНИИЦиСК большое внимание уделяется вопросу разработки приёмов микроразмножения и сохранения редких и исчезающих видов Западного Кавказа методами биотехнологии [1–3, 5–8, 10].

Завершающим этапом микроразмножения *in vitro* растений является адаптация к условиям *ex vitro*. Известно, что основные трудности адаптации обусловлены развитием у растений из условий *in vitro* морфо-анатомических особенностей, связанных с гетеротрофным питанием и высокой влажностью при выращивании в культуральных сосудах: слабое развитие мезофилла, низкая фотосинтетическая активность, несовершенство процессов транспирации и проводящих элементов [9].

Некоторыми исследователями установлено, что адаптация растений к условиям *ex vitro* – обязательная стадия клонального микроразмножения, являющаяся заключительной и стрессовой для пробирочных растений, и определяющая успех всей работы [4, 11]. Установление особенностей роста в данный период является важной задачей для разработки технологии выращивания многих видов биотехнологическими методами.

Вместе с тем, вопросы адаптации растений к условиям *ex vitro* изучены недостаточно, и для каждой отдельной культуры с учётом её особенностей требуются дополнительные исследования. Особенно актуален этот вопрос для сохранения и размножения видов растений природной флоры [3]. Часто для повышения адаптационной способности растений используют препараты, стимулирующие рост и развитие растений, и повышающие их иммунитет. Применение препаратов нового поколения на этапе адаптации позволяет повысить приживаемость растений из культуры *in vitro* до 96–98 % [3].

Цель исследования – изучение особенностей адаптации *Lilium caucasicum* (Misch. ex Grossh.) к условиям *ex vitro*.

Для адаптации к условиям *ex vitro* отбирали луковички размером не менее 5,5–5,8 мм с развитой корневой системой (длиной корней – 2,8–3,1 см, количеством корней 4,1–4,5 шт.) (рис. 1).

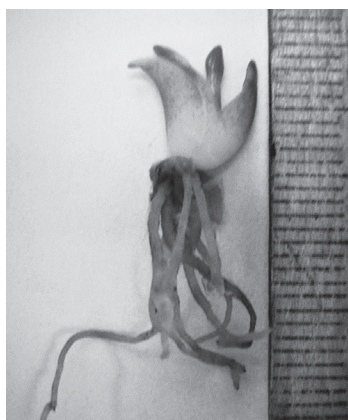


Рис. 1. Микролуковица *L. caucasicum* подготовлена к адаптации

Изучение режимов и подбор приёмов адаптации *L. caucasicum ex vitro* проводили с использованием биопрепаратов:

1. НВ-101 (0,2 мл/л) – основным компонентом которого является диоксид кремния, извлечённый из сока и древесины сосны, подорожника, кипариса, кедра. Представляет собой универсальный стимулятор иммунитета и развития растений;

2. Циркон – действующее вещество гидроксикоричные кислоты (ГКК), кофейные кислоты и её производные: цикориевые и хлорогеновые кислоты, выделенные из эхинацеи пурпурной. Препарат улучшает укоренение при адаптации, защищает растения от стрессов;

3. Эпин – принадлежит к классу brassinosteroidов, природных гормонов растений, антистрессовый адаптоген, обладающий сильной ростостимулирующей активностью;

4. Плант – природное органическое удобрение, улучшает питание и укоренение растений.

Объектами были размноженные *in vitro* растения *L. caucasicum*. В качестве субстрата использовали пропаренную до 90 °С смесь торфа и вермикулита в соотношении 3 : 1. Растительные образцы высажены в субстрат, обработанный растворами биопрепаратов:

вариант 1 – НВ-101 (0,2 мл/л);

вариант 2 – циркон (0,25 мл/л);

вариант 3 – эпин (0,5 мл/л);

вариант 4 – плант (2,5 г/л);

контроль (вода без биопрепарата).

Адаптация проводилась в культуральном помещении в пластиковых контейнерах при температуре $+22 \pm 2$ °С, влажности воздуха в первые три недели 90 % и освещённости 3 тыс. люкс. Результаты воздействия биопрепаратов оценивали через 25 дней по следующим показателям: приживаемость растений (%), длина (см) и количество корней (шт.), длина листьев (см), размер (см) и масса луковичек (г).

Обработку экспериментальных данных проводили, применяя пакет программ MS Excel.

Результаты исследований. В результате изучения влияния биопрепаратов на адаптацию луковичек *L. caucasicum*, установлено их положительное действие на биометрические показатели и приживаемость к условиям *ex vitro*.

Наилучшее развитие луковичек по таким показателям, как длина и количество корней, длина листьев, размер и масса луковичек, а также приживаемость растений отмечен на вариантах опыта с плантом

и эпином, 92,1 и 94,6 %, соответственно (табл. 1, рис. 2а–д.). Наименьшие биометрические показатели, на уровне контроля, были получены на субстрате, обработанном биопрепаратом НВ-101, приживаемость растений на нём была на 2,2 % ниже, чем в контроле.

Таблица 1

**Влияние действия биопрепаратов
при адаптации луковичек *L. caucasicum* к условиям *ex vitro***

Варианты	Длина корней, см	Кол-во корней, шт.	Длина листьев, см	Размер луковички, см	Масса, луковички, г	Приживаемость, %
Контроль	4,5 ± 0,2	4,7 ± 0,5	4,3 ± 0,4	0,9 ± 0,2	0,169 ± 0,01	77,6
НВ-101 (0,2 мл/л)	4,9 ± 0,5	5,3 ± 0,6	4,2 ± 0,5	1,1 ± 0,3	0,175 ± 0,02	75,4
Циркон (0,25 мл/л)	5,2 ± 0,7	5,8 ± 0,4	4,1 ± 0,3	1,2 ± 0,1	0,187 ± 0,5	83,7
Эпин (0,5 мл/л)	8,3 ± 0,5	9,5 ± 0,3	5,3 ± 0,4	1,4 ± 0,2	0,203 ± 0,3	94,6
Плант (2,5 г/л)	8,5 ± 0,2	9,1 ± 0,3	5,1 ± 0,2	1,4 ± 0,3	0,201 ± 0,4	92,1



а б в г д

Рис. 2. Влияние действия биопрепаратов на биометрические показатели луковичек *L. caucasicum*: а – контроль; б – НВ-101; в – циркон; г – эпин; д – плант

Среднюю эффективность воздействия на рост и развитие луковичек *L. caucasicum* проявлял биопрепарат циркон, приживаемость растений с обработкой этим препаратом превышала результаты в контроле на 6,1 %. Необходимо отметить, что кроме НВ-101 все используемые препараты дали положительный эффект, превысив показатель приживаемости от 6,1 до 17,0 %, по сравнению с контролем.

Также стоит отметить, что при переносе луковичек на адаптацию в условия культуральной комнаты (температура $+22 \pm 2$ °С, освещённость 3 000 Лк), у них наблюдался период покоя. В наибольшей степени он отмечен у луковичек в контрольном варианте (47 %), в меньшей степени на субстратах, обработанных биопрепаратами НВ-101 (42 %), цирконом (39 %), плантом и эпином (по 19 %). Выход из состояния покоя луковиц проводили чередованием высоких и низких температур в холодильной камере при $+7 \pm 2$ °С в темноте в течение месяца, что в дальнейшем приводило к появлению ассимилирующих листьев.

Таким образом, согласно полученным данным наиболее оптимальными биопрепаратами для адаптации растений-регенерантов *L. caucasicum* являются плант (2,5 г/л) и эпин (0,5 мл/л), позволяющие получить от 92,1 до 94,6 % адаптированных растений с хорошо развитой корневой системой и листовым аппаратом.

Библиографический список

1. Коломиец Т.М., Маляровская В.И., Гвасалия М.В., Самарина Л.С., Соколов Р.Н. Микро-размножение *in vitro* субтропических, декоративных культур и эндемиков Западного Кавказа: оригинальные и оптимизированные протоколы // Сельскохозяйственная биология. – 2014. – № 3. – С. 49-58. – ISSN: 0131-6397.
2. Коломиец Т.М., Маляровская В.И., Губаз С.Л. Создание и поддержание коллекции субтропических плодовых, цветочно-декоративных культур, редких и исчезающих видов Западного Кавказа в культуре *in vitro* // Плодоводство и ягодоводство России. – 2015. – Т. 43. – С. 99-103. – ISSN: 2073-4948.
3. Коломиец Т.М., Маляровская В.И., Самарина Л.С., Рахмангулов Р.С. Адаптация растений *Campanula sclerophylla* Kolak. к нестерильным условиям среды // Субтропическое и декоративное садоводство. – 2016. – Вып. 58. – С. 95-99. – ISSN: 2225-3068.
4. Кухарчик Н.В. Адаптация в нестерильных условиях регенерантов косточковых культур, выращенных *in vitro* // Совершенствование сортамента и технологии возделывания косточковых культур: материалы науч.-метод. конф., Орел, 14-17 июля 1998 г. – Орел: ВНИИСПК, 1998. – С. 114-116. – ISBN: 5-900705-14-5.
5. Маляровская В.И., Коломиец Т.М., Соколов Р.Н., Самарина Л.С. Влияние спектрального состава света на рост и развитие *Lilium caucasicum* в условиях культуры *in vitro* [Электронный ресурс] // Политематический сетевой электронный научный журнал КубГАУ. – 2013. – № 94(10) – URL: <http://ej.kubagro.ru/2013/10/pdf/12.pdf> – ISSN: 1990-4665.
6. Рындин А.В., Белоус О.Г., Притула З.В., Маляровская В.И. Лаборатория биотехнологии, физиологии и биохимии растений Всероссийского научно-исследовательского

- института цветоводства и субтропических культур: вчера, сегодня, завтра // Субтропическое и декоративное садоводство. – 2015. – Вып. 54. – С. 9-22. – ISSN: 2225-3068.
7. Слепченко Н.А. Редкие и исчезающие виды семейства *Amaryllidaceae* Jaume Saint-Hilaire на Черноморском побережье России и стратегия их сохранения: автореф. дис. ... канд. б. наук. – Махачкала, 2013. – 23 с.
8. Соколов Р.Н., Коломиец Т.М., Маляровская В.И. Введение в культуру *in vitro* некоторых редких и исчезающих видов флоры Западного Кавказа [Электронный ресурс] // Политематический сетевой электронный научный журнал КубГАУ. – 2013. – № 94(10). – URL: <http://ej.kubagro.ru/2013/10/pdf/13.pdf> – ISSN: 1990-4665.
9. Hazarika B.N. Morpho-physiological disorders *in vitro* culture of plants // *Sci Hortic.* – 2006. – Vol. 108. – P. 105-120. – doi.org/10.1016/j.scienta.2006.01.038
10. Kolomiets T.M., Malyarovskaya V.I., Samarina L.S. *In vitro* conservation of *Campanula sclerophylla* Kolak. endemic endangered species of Western Caucasus // *Plant Tissue Cult. & Biotech.* – 2016. – 26(2). – P. 143-149. – doi: <http://dx.doi.org/10.3329/ptcb.v26i2.30564>
11. Rohr R. Acclimatization of micropropagated forest trees // *Acta Horticulturae* [Electronic resource]. – 2003. – № 616. – Mode of access: http://www.actahort.org/books/616/616_3.htm. (date of access: 05.07.2018.). – doi:10.17660/ActaHortic.2003.616.3

**ADAPTATION CHARACTERISTIC
OF *LILIUM CAUCASICUM* (MISCZ.) GROSSH.
TO *EX VITRO* CONDITIONS**

Malyarovskaya V. I., Samarina L. S.

*Federal State Budgetary Scientific Institution
"Russian Research Institute of Floriculture and Subtropical Crops",
c. Sochi, Russia, e-mail: malyarovskaya@yandex.ru*

The paper studied the influence of biopreparations of a new generation (HB-101, zircon, epine, plant) at the stage of adaptation to *ex vitro* conditions of *Lilium caucasicum* (Miscz.) Grossh. (= *Lilium martagon* L.) bulbs. It was established that the best development of onions, according to biometric parameters such as length and number of roots, leaf length, size and weight of onions, as well as plant survival was noted on substrates treated with plan (2.5 g/l) – 92.1 % and epine (0.5 ml/l) – 94.6 %. The smallest biometric indicators, at the control level, were obtained on a substrate treated with the biological preparation HB-101, the plant survival rate was 2.2 % lower than in the control.

Key words: *Lilium caucasicum*, *in vitro*, propagation, growth regulators, plant acclimatization, biometric indicators, survival rate.