

ГЕНЕТИКА, ЦИТОЛОГИЯ И РЕПРОДУКТИВНАЯ БИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

УДК 582:581.522.4(082)

ПОДГОТОВКА РЕГЕНЕРАНТОВ *POTENTILLA VOLGARICA* JUZ.
(ROSACEAE) К ВЫСАДКЕ ИЗ КУЛЬТУРЫ *IN VITRO*
В ПРИРОДНЫЕ УСЛОВИЯ

Т. А. Крицкая, Н. А. Петрова, А. С. Кашин

Учебно-научный центр «Ботанический сад» СГУ
410010, Саратов, ул. Академика Навашина, 1
E-mail: kriczkaya.tatyana@mail.ru

Получены растения-регенеранты *P. vulgarica* в культуре *in vitro*. Установлено, что ризогенез происходит на питательной среде с уменьшенным в два раза количеством минеральных солей без фитогормонов либо с добавлением ИУК 0.05 мг/л. Выявлен оптимальный почвенный субстрат для адаптации регенерантов к нестерильным условиям, состоящий из нейтрального садового грунта, мела, вермикулита и дренажного слоя из керамзита. Акклиматизированные растения успешно высажены в природные условия.

Ключевые слова: *Potentilla vulgarica*, *ex vitro*, регенерант, адаптация к нестерильным условиям, почвенный субстрат.

PREPARATION REGENERANTS *POTENTILLA VOLGARICA* JUZ.
(ROSACEAE) FOR LANDING FROM *IN VITRO*
CULTURE UNDER NATURAL CONDITIONS

T. A. Kritckaia, N. A. Petrova, A. S. Kashin

Plantlets of *P. volgarica* were obtained in culture *in vitro*. It is established that rooting was induced on a half-diluted hormone-free medium or supplemented IAA 0.05 mg/L. *In vitro* rooted plantlets of *P. volgarica* acclimatized *ex vitro* in peat substrate mixed with chalk, vermiculite and a drainage layer of expanded clay. After acclimatization plants were successfully transplanted to natural conditions.

Key words: *Potentilla volgarica*, *ex vitro*, plantlet, acclimatization, peat substrate.

Potentilla volgarica Juz. относится к одному из крупнейших по числу видов родов семейства Rosaceae. Род включает 6 подродов, 19 секций, 2 подсекции и насчитывает 420 видов, встречающихся преимущественно в северных умеренных широтах (Камелин, 2001).

P. volgarica является узколокальным эндемиком России. Внесен в Красную книгу Российской Федерации (Камелин, 2008) с категорией «1» – вид, находящийся под угрозой исчезновения, и в Красную книгу Саратовской области (Худякова, 2006) со статусом «1(Е)» – вид, находящийся под угрозой исчезновения. Редкость вида определяется, вероятно, ослабленным плодоношением, постоянным разрушением почвенного покрова в результате рекреационной нагрузки (выпас скота, эрозия меловых склонов, распашка степных участков), а также рядом фитоценологических особенностей (Забалуев и др., 2011).

В Саратовской области *P. volgarica* отмечена в Хвалынском, Вольском и Воскресенском районах (Худякова, 2006; Серова, Березуцкий, 2008; фонды Гербариев SARAT и SARBG). Обитает на маломощной, слабогумусированной черноземно-карбонатной почве и меловых обнажениях по водоразделам и верхним частям склонов южных экспозиций, где местами встречается довольно обильно, а также на участках со слабо развитыми карбонатно-черноземными почвами в реликтовых сосновых борах (Камелин, 2001; Худякова, 2006).

Материал и методика

Исходным материалом для введения в стерильную культуру служили зрелые семена, собранные с коллекционных растений УНЦ «Ботанический сад». В коллекции Ботанического сада лапчатка волжская выращивается с 2007 г. из семян, собранных в природных популяциях на территории Национального парка «Хвалынский».

Растения-регенеранты лапчатки были получены методом прямого органогенеза в культуре изолированных тканей *in vitro*.

Адвентивные побеги регенерировали из пазушных почек на питательной среде по прописи Мурасиге и Скуга (Murashige, Skoog, 1962) с добавлением 6-бензиламинопурина 0.2 мг/л и зеатина 0.5 мг/л (Крицкая, Кашин, 2013). После нескольких циклов микроразмножения полученные мериклоны укореняли на питательной среде с уменьшенной в два раза концентрацией питательных веществ без регуляторов роста либо с добавлением 3-индолилуксусной кислоты (ИУК) 0.05 мг/л. В первом варианте ризогенез длился 3–6 недель, во втором – 2–3 недели. Процент укорененных регенерантов в первом и втором вариантах составил $89.6 \pm 9.39\%$ и $85.5 \pm 10.3\%$ соответственно, количество корней на один эксплант – 3.28 ± 1.11 шт. и 5.33 ± 1.90 шт. соответственно. Регенеранты извлекали из пробирки и промывали в дистиллированной воде для удаления остатков среды.

В целях выявления оптимальных условий для лучшей приживаемости объекта адаптацию к нестерильным условиям осуществляли несколькими способами. Растения-регенеранты высаживали в пластиковые контейнеры объемом 200–300 мл с различным субстратом (таблица).

Апробированные варианты субстратов для адаптации растений-регенерантов *Potentilla vulgarica ex vitro*

Субстрат	Количество жизнеспособных растений, %
Торфяной грунт + дренажный уровень из керамзита	27.6
Нейтральный садовый грунт + дренажный уровень из керамзита	67.9
Нейтральный садовый грунт + мел + вермикулит + дренажный уровень из керамзита	90.0
Мел + вермикулит + дренажный уровень из керамзита	33.3

Контейнеры с посаженными растениями в одном случае помещали в полиэтиленовый мешок, в другом случае – накрывали точно таким же чистым контейнером так, чтобы их края совпадали. В первом варианте постепенный доступ воздуха обеспечивали посредством перфорации полиэтиленового мешка (примерно по 2 прокола в сутки), а во втором варианте – постепенным смещением верхнего контейнера относительно нижнего (на несколько мм в сутки). Все высаженные растения культивировались в культуральной комнате с освещением белыми люминесцентными лампами и 16-часовым фотопериодом.

Результаты и их обсуждение

Наилучшая приживаемость растений (90%) наблюдалась при использовании субстрата, состоящего из нейтрального садового грунта, мела и вермикулита в соотношении 3:1:1, располагающихся послойно, и дренажного уровня из керамзита толщиной 2–3 см, (рисунок, а). Наименьшее количество жизнеспособных растений (27.6%) отмечено при посадке их в торфяной грунт, при этом первые две недели регенеранты развивались нормально, а затем скоростигжно выпадали.

Между двумя способами постепенного снижения влажности воздуха в течение адаптации статистически достоверных отличий по приживаемости регенерантов выявлено не было.



Схема распределения компонентов субстрата для культивирования *P. vulgarica* (а) и акклиматизированные растения-регенеранты (б)

Растения приживались в условиях *ex vitro* быстро (2–3 недели) и развивали мощную корневую систему и крупные розетки в течение месяца после акклиматизации (см. рисунок, б).

Адаптированные растения лапчатки высаживали в природные условия в июле и августе 2013 г. в разнотравно-злаковое сообщество на восточном склоне горы Лысая в районе автовокзала г. Саратова. Выбранный участок расположен на карбонатных почвах. Общее проективное покрытие травостоя составляет 40–30%. Доминирует *Stipa capillata* L. *, *Galatella villosa* (L.) Reichenb. fil. Спорадически встречаются *Bromopsis inermis* (Leyss.) Holub, *Agropyron cristatum* (L.) Beauv., *Elytrigia repens* (L.) Nevski, *Echinops ruthenicus* Bieb., *Achillea millefolium* L., *Melilotus officinalis* (L.) Pall. Во втором ярусе произрастает *Festuca valesiaca* Gaudin, *Centaurea marschalliana* Spreng., *Hedysarum grandiflorum* Pall., *Alyssum tortuosum* Waldst. et. Kit. ex Willd., *Onosma simplicissima* L. Единично по склону встречаются *Pinus silvestris* L., *Crataegus sanguinea* Pall. Имеет место слабая рекреационная нагрузка, редкие посещения скотом.

Растения, адаптированные в июле и высаженные в конце августа, приобрели типичный габитус к началу октября (через три месяца после извлечения из пробирки).

Заключение

Таким образом, полученные в культуре *in vitro* растения-регенеранты *P. vulgarica* образовывали корни на питательной среде без регуляторов роста либо с добавлением ИУК 0.05 мг/л. При этом концентрация минеральных солей была снижена в два раза относительно среды, используемой на этапе микроразмножения. Наилучшим субстратом для адаптации укорененных регенерантов к нестерильным условиям является сочетание нейтрального садового грунта, мела, вермикулита в соотношении 3:1:1 и дренажного слоя из керамзита. Растения, высаженные в природные условия, успешно акклиматизировались и прижились.

Укорененные регенеранты адаптированы к нестерильным условиям на субстрате, состоящем из нейтрального садового грунта, мела, вермикулита в соотношении 3:1:1 и дренажного слоя из керамзита. Акклиматизированные растения были успешно высажены в природные условия.

* Латинские названия приводятся в соответствии со Сводкой С. К. Черепанова, 1995 г.

В дальнейшей работе планируется установить оптимальное время высадки растений-регенерантов в целях увеличения численности природных популяций и проводить мониторинг созданной искусственной популяции.

Список литературы

Забалуев А. П., Ганичкина Л. Ю., Серова Л. А. Структура сообществ с лапчаткой волжской – *Potentilla vulgarica* Juz. в НП «Хвалынский» // Научные труды национального парка «Хвалынский» : сб. науч. ст. Саратов ; Хвалынский : ИЦ «Наука», 2011. Вып. 3. С. 25–30.

Камелин Р. В. Род Лапчатка – *Potentilla* L. // Флора Восточной Европы / отв. ред. Н. И. Цвелев. СПб. : Мир и семья ; Изд-во СПХФА, 2001. Т. 10. С. 394–452.

Камелин Р. В. *Potentilla vulgarica* Juz. // Красная книга Российской Федерации (растения и грибы) / Мин-во природных ресурсов и экологии РФ; Федеральная служба по надзору в сфере природопользования; РАН ; Российское ботаническое общество ; МГУ им. Ломоносова. М. : Товарищество науч. изданий КМК, 2008. С. 497–498.

Крицкая Т. А., Кашин А. С. Возможности и перспективы применения методов биотехнологии для сохранения вида *Potentilla vulgarica* Juz. в культуре *in vitro* // Научные труды Национального парка «Хвалынский». Саратов ; Хвалынский : ИЦ «Наука», 2013. Вып. 5. С. 80–85.

Серова Л. А., Березуцкий М. А. Растения национального парка «Хвалынский» (Конспект флоры). Саратов: Науч. книга, 2008. 194 с.

Худякова Л. П. Лапчатка волжская *Potentilla vulgarica* Juz. // Красная книга Саратовской области / Комитет охраны окружающей среды и природных ресурсов Саратов. обл. Саратов : Изд-во Торг.-пром. палаты, 2006. С. 145–146.

Черепанов С. К. Сосудистые растения России и сопредельных государств (в пределах бывшего СССР). СПб. : Мир и семья, 1995. 992 с.