

## Список литературы

- Алешина Е. Н., Болдырева Я. А. Особенности введения двух видов *Janiperus* в культуру in vitro // The biology of Plant Cells in vitro and Biotechnology : Abstr. VIII Int. conf. Саратов : Изд-во Сарат. губ. торг.-пром. палаты, 2003. С. 33.
- Джигадло М. И., Колесникова А. Ф., Джигадло Е. Н. и др. Микрклональное размножение и производство посадочного материала плодовых и ягодных культур высших категорий качества // The biology of Plant Cells in vitro and Biotechnology : Abstr. VIII Int. Conf. Саратов : Изд-во Сарат. губ. торг.-пром. палаты, 2003. С. 109.
- Красовская Л. С. Рубус – *Rubus* L. // Флора восточной Европы. СПб. : Наука и техника, 2001. Т. 10. С. 362–393.
- Маевский П. Ф. Флора средней полосы европейской части России. М. : Товарищество научных изданий КМК, 2006. 600 с.
- Майорова Ю. А. Оптимизация этапов клонального микроразмножения гибридов вишни на основе применения новых биологически активных веществ : дис. ... канд. биол. наук. Краснодар, 2009. 133 с.
- Озеровский А. В. Микрклональное размножение селекционных форм ремонтантной малины с использованием новых регуляторов роста : дис. ... канд. биол. наук. Брянск, 2007. 123 с.
- Пат. 2128430 Российская Федерация, А01Н4/00. Питательная среда для микрклонального размножения черешни / Фардзинова И. М.; опубл. 10.04.1999.
- Пат. 2198505 Российская Федерация, А01Н4/00, С12N5/04. Питательная среда для регенерации растений абрикоса из незрелых зародышей / Фардзинова И. М.; опубл. 20.02.2003.

УДК 635.21:631.582.2:58.085

## БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ В ИНТРОДУКЦИИ ГЛАДИОЛУСА ГИБРИДНОГО

Т. Н. Шакина

Саратовский государственный университет им. Н. Г. Чернышевского  
Учебно-научный центр «Ботанический сад»  
410010, г. Саратов, ул. Академика Навашина  
e-mail: shakinatn@rambler.ru

Среди клубнелуковичных растений гладиолус гибридный – одна из наиболее подверженных различным заболеваниям цветочная культура. В наших климатических условиях гладиолус гибридный повреждается в основном тремя видами возбудителей: *Fusarium oxysporum* Schl. f. *gladioli* (Mass.) Sn. et Hans, *Botrytis gladiolorum* Timm, *Pseudomonas marginata* (Mc Cull.) Stapp., а также вирусами *Gladiolus mosaic virus* и *Yellow mosaic virus*. Повышенная восприимчивость растений к болезням осложняет введение в культуру данного клубне-

луковичного геофита в зону Нижнего Поволжья. Рассмотрены пути повышения устойчивости растений гладиолусов к болезням различными методами, дан обзор литературы по этой проблеме.

**Ключевые слова:** гладиолус гибридный, биотехнология.

## BIOTECHNOLOGICAL ASPECTS IN INTRODUCTION GLADIOLUS HYBRID

**T. N. Shakina**

Among the plant gladiolus corm hybrid – one of the most prone to various diseases flower crops. In our climatic conditions gladiolus hybrid damaged mainly three types of pathogens such as *Fusarium oxysporum* Schl. f. *gladioli* (Mass.) Sn. et Hans, *Botrytis gladiolorum* Timm, *Pseudomonas marginata* (Mc Cull.) Stapp., as well as viruses *Gladiolus mosaic virus* and *Jellow mosaic virus*. Increased susceptibility of plants to disease makes it difficult to introduce into the culture of the corm geophytes in the area of the Lower Volga region. The ways of improving plant resistance to diseases gladioli by various methods, an overview of the literature on this issue.

**Key words:** hybrid gladiolus, biotechnology.

В связи с возрастающим интересом и спросом на новые формы растений и развитием внутреннего и внешнего озеленения, а также необходимостью сокращения импорта цветочной продукции в нашей стране становится актуальной проблема массового размножения здорового посадочного материала высокого качества, в том числе гладиолусов.

Гладиолусы пользуются огромной популярностью, так как широко используются в срезке. В ландшафтном оформлении они задействованы в меньшей степени, тем не менее существуют низкорослые и не требующие подвязки сорта, использующиеся как обсадные. К сожалению, среди клубнелуковичных цветочных растений гладиолус гибридный – это одна из наиболее поражаемых культур, как по количеству зарегистрированных на ней патогенных видов, так и по интенсивности развития болезней, которые приносят значительный ущерб. В нашей стране гладиолусы являются довольно капризной культурой, требовательной к теплу, освещению и влаге, качественному и механическому составу почвы, так как родом они из Южной Африки. В настоящее время в России зарегистрировано около 30 болезней гладиолусов (Журавлев, 1973; Горленко, Панько, 1977). Способствуют распространению болезней неблагоприятные факторы внешней среды, недостаток или избыток питательных веществ, неправильный режим хранения клубнелуковиц и луковиц, высокая восприимчивость растений к вредоносным микроорганизмам. Несоответствие условий, в которых выращиваются гладиолусы, их природным

требованиям снижает сопротивляемость растений к болезням. Поэтому при нарушении агротехники выращивания, которая должна проводиться с учетом их биологических особенностей, и наличии неблагоприятных климатических условий гладиолусы в значительной мере поражаются грибными, бактериальными и вирусными заболеваниями, снижающими их декоративность или приводящими к полной гибели. Кроме того, наличие инфекционного фона у посадочного материала отражается не только на декоративных качествах растений, но и на заражении окружающей среды патогенными микроорганизмами, что в свою очередь сказывается на экологической обстановке.

Высокая восприимчивость растений гладиолусов к болезням и эколого-климатические факторы осложняют интродукцию данной культуры в зоне Нижнего Поволжья. Температура воздуха и почвы выше 30 °С оказывает угнетающее воздействие на растения, а сухой ветер вызывает преждевременное увядание цветков. Установлено, что в наших климатических условиях гладиолус гибридный повреждается в основном тремя видами возбудителей: *Fusarium oxysporum* Schl. f. *gladioli* (Mass.) Sn. et Hans, *Botrytis gladiolorum* Timm, *Pseudomonas marginata* (Mc Cull.) Stapp., а также вирусами *Gladiolus mosaic virus* и *Jellow mosaic virus* (Шакина, 2010). Фузариоз среди выявленных патогенных факторов является одним из самых вредоносных, вызывающих массовую гибель клубнелуковиц гладиолусов, как во время вегетации, так и во время хранения. Негативные последствия болезней заставляют искать пути, благодаря которым можно было бы успешно культивировать гладиолусы в конкретном регионе.

Одним из путей, препятствующих массовому развитию болезней, является повышение устойчивости растений гладиолусов к болезням с помощью методов селекции. Однако селекция гладиолуса в основном направлена на получение высокодекоративных сортов, тогда как никаких существенных достижений в повышении устойчивости растений к заболеваниям пока не имеется, что также способствует массовому развитию болезней.

Достижения в области культуры клеток и тканей привели к созданию принципиально нового метода вегетативного размножения – клонального микроразмножения, в основе которого лежит уникальная способность растительной клетки реализовывать присущую ей тотипотентность (Батыгина, Васильева, 2002). На сегодняшний день эта способность соматических клеток выявлена у различных культур, среди которых большую часть составляют однолетние и вегетативно размножаемые растения. В настоящее время биотехнология играет важную роль для ускоренного

клонирования плодовых, ягодных, овощных, декоративных видов растений (однолетники, луковичные и клубнелуковичные и др.) и древесных пород, список которых с каждым годом пополняется (Атанасов, 1993; Ахмед, 2000; Ахметова, 2008; Митрофанова и др., 2008; Осипова, 2008; Зинина и др., 2009). Такие страны, как Голландия, Польша и ряд других являются лидерами по выращиванию травянистых и кустарниковых декоративных многолетников, размножая их методом *in vitro*. Так, широкое использование технологии интенсивного размножения позволило Голландии стать крупнейшим производителем высококачественного посадочного материала, а цветоводство – прибыльной областью хозяйства.

Микроклональное размножение растений имеет ряд преимуществ перед традиционными методами размножения. Так, при вегетативном размножении сокращается длительность ювенильного периода, трудно получить стандартный, выровненный материал, существует возможность накопления и передачи инфекции, приводящая к гибели растений. Тогда как методы биотехнологии позволяют многократно увеличить коэффициент размножения, сохранить целостность маточных растений, получить генетически однородный материал, сократить продолжительность селекционного периода, ускорить переход растений от ювенильной к репродуктивной фазе развития, осуществить омоложение материала (реювенилизация), размножить медленно растущие и плохо размножаемые традиционными способами растения (Калинин и др., 1992). Наряду с этим немаловажным достоинством технологии микроклонального размножения является возможность освобождения растений от грибных и бактериальных патогенов, вирусов, микоплазменных, виroidных и нематодных инфекций за счет использования меристемной культуры (ткани апексов и пазушных почек стеблевого происхождения) (Атанасов, 1993).

Одним из первых предположение о возможности отсутствия вирусов в меристематических тканях больных растений высказал П. Р. Уайт (1949). В 50–60-е гг. прошлого столетия были получены первые безвирусные георгины из зараженных растений, а также свободные от вирусной инфекции растения орхидей (Атанасов, 1993). Считалось, что в больном растении вирус распространяется с отставанием от быстро растущих молодых органов, особенно в молодых недифференцированных тканях (меристемные ткани апексов и пазушные почки органов стеблевого происхождения), где концентрация вируса может снижаться вплоть до полного отсутствия. Структурной основой используемого на практике явления служит специфика строения точки роста растений: дистальная ее часть, представленная апикальной меристемой, у разных расте-

ний имеет средний диаметр до 200 мкм и высоту от 20 до 150 мкм. Как правило, меристема состоит из конуса нарастания, а также одного или двух листовых зачатков (примордиев) и является свободной от инфекции. В нижних слоях дифференцирующиеся клетки меристемы образуют прокамбий, дающий начало пучкам проводящей системы. Такая особенность строения апикальной меристемы исключает проникновение в нее вируса путем быстрого транспортирования по проводящей системе, но допускает возможность медленного распространения через плазмодесмы, соединяющие меристематические клетки. В то же время зона, свободная от вирусных организмов, для разных вирусов различна. Это зависит также от вида и сорта растения. Однако использование электронной микроскопии часто обнаруживает наличие вирусов в меристеме пораженных ими растений. Таким образом, применение меристемной культуры в качестве метода оздоровления зараженных вирусами растений оказывается не всегда эффективной. Однако получение безвирусной апикальной меристемы от большого растения в принципе возможно, но при этом необходимо предотвратить попадание вирусов в здоровые ткани. Достигнуть этого можно путем применения предварительной термо- или химиотерапии исходных растений. Сотрудники Никитского ботанического сада (г. Ялта) разработали с использованием этих методов биотехнологические системы освобождения растений от комплекса вирусов плодовых (Митрофанова и др., 2008; Митрофанова и др., 2009) и декоративных (Митрофанова, 1992) культур.

Изучение возможности клонального микроразмножения гладиолусов проводилось как за рубежом, так и у нас в стране. В зарубежных работах, посвященных микрклональному размножению гладиолуса гибридного, 70–80-х гг. прошлого столетия (Dantu, Bhojwanis, 1987; Simonsen, Hildebrandt, 1971; Ziv, 1970, 1989) представлены способы получения гладиолусов через каллусную культуру (культивирование пазушных почек), а также методами, связанными с пролиферацией пазушных и адвентивных меристем (Dantu, Bhojwanis, 1987; Ziv, 1970, 1989). Для получения здоровых растений в этих случаях были использованы индукция каллуса из изолированных верхушек вторичных побегов и морфогенез за счет образования органоидов с сосудистой тканью, побегов и растений с корешками (Simonsen, Hildebrandt, 1971). Недостатки перечисленных методов заключаются в длительности процесса, низкой выживаемости регенерантов, отсутствии сведений о стабильности растений в культуре *in vitro*, невысоком коэффициенте размножения и частоте прорастания клубнелуковиц. Исследования последних лет по микрклональному размножению как сортовых, так и видовых гладиолусов были направлены

на изучение биологических особенностей различных типов эксплантов, оптимизации минерального и органического состава питательных сред, совершенствования условий культивирования на каждом этапе микро-размножения, повышения коэффициента размножения в культуре *in vitro*, получения здорового посадочного материала (Ахмед, 2000; Ziv, Lilien-Kipnis, 2000; Sinha, Roy; 2002; Мокшин, 2005; Priyakumari, Sheela, 2005; Prasad, Dutta Gupta, 2006; Subhash et al., 2006; Emek, Erdag, 2007; Aftab et al., 2008; Осипова, 2008; Ruffoni et al., 2008; Erdag et al., 2009; Фоменко, Веевник, 2010). В результате была показана возможность применения в качестве эксплантов сегментов стебельков соцветий для регенерации с образованием на базальном конце слоя каллуса зачатков корней, на дистальном конце – почек и вторичных побегов (Ziv, Lilien-Kipnis, 2000). Однако индукция прямой регенерации, при которой используются латеральные меристемы почек клубнелуковиц и клубнепочки (Фоменко, Веевник, 2010), оказалась более предпочтительным подходом в клональном микро-размножении гладиолусов.

Среди последних работ по микроклональному размножению гладиолуса гибридного заслуживает внимания создание способа клонального микро-размножения, который может быть использован для повышения коэффициента размножения генетически стабильных и свободных от инфекций растений, в селекционной практике – для создания и улучшения уже известных сортов (Гапоненко и др., 2002). Способ предусматривает культивирование экспланта гладиолуса (апикальные почки с прилегающими участками ткани) в питательной индуцирующей среде, содержащей гормоны для инициации пролиферации почек, и продолжение культивирования побегов для их роста, развития и прорастания, позволяющие получить растения-регенеранты с клубнелуковицами. Использование данного метода приводит к множественному образованию клубнелуковиц из одной апикальной почки путем пролиферации экспланта, образования побегов и боковых почек.

Еще одним биотехнологическим приемом оздоровления посадочного материала от вирусов в настоящее время является метод трансгенеза, с помощью которого получают формы растений, в том числе и гладиолусов (Kamo et al., 2005), с генетической устойчивостью к вирусам.

Таким образом, в связи с возрастающими требованиями к исходному посадочному материалу, который в соответствии с последними стандартами должен быть свободен от различных инфекций, устойчив к широкому спектру заболеваний, биотехнологические методы приобретают лидирующую роль в получении цветочной продукции высокого качества (Осипова, 2008). В свою очередь применение приемов микроклонального

размножения позволит преодолеть трудности, возникающие при интродукции гладиолусов в сложных климатических условиях.

Для совершенствования технологии микроклонального производства посадочного материала гладиолусов, устойчивых к различного рода патогенам, необходимы подбор исходного материала, дальнейший поиск общих закономерностей морфогенеза гладиолусов с учетом их биологических особенностей, оптимизация основных технологических приемов и этапов *in vitro*. Для выбора исходного материала нужно провести интродукционные испытания, результатом которых будет установление и выявление сортов относительно устойчивых к наиболее распространенным в данной местности болезням. Так, в результате проведенных исследований нами были выделены следующие перспективные для введения в культуру *in vitro* сорта гладиолусов: «Полководец», «Золотой Улей», «Малика», «Балет на Льду», которые в течение 10 лет выращивались на коллекционных участках УНЦ «Ботанический сад» и проявили себя как относительно устойчивые к фузариозу и вирусным инфекциям.

#### Список литературы

- Абукамель А. А. Создание высокоэффективной системы микроклонального размножения генетически стабильных растений гладиолуса : дис. ... канд. биол. наук. М., 2000. 111 с.
- Атанасов А. И. Биотехнология в растениеводстве. Новосибирск : ИЦ и ГСО РАН, 1993. 241 с.
- Ахметова А. Ш. Культивирование зародышей тюльпанов *in vitro* // Биология клеток растений *in vitro* и биотехнология : тез. IX междунар. конф. М. : ИД ФБК–ПРЕСС, 2008. С. 8–9.
- Батыгина Т. Б., Васильева Е. В. Размножение растений. СПб. : Наука и техника, 2002. 232 с.
- Бутенко Р. Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнология на их основе. М. : ИД ФБК – ПРЕСС, 1999. 160 с.
- Пат. 2180165 Российская Федерация. Способ микроклонального размножения гладиолуса / Гапоненко А. К., Абукамель А. А., Бабаева Сима Ага Гусейн; опубл. 2002.
- Горленко С. В., Панько Н. А. Защита луковичных и клубнелуковичных культур от болезней и вредителей. Минск : Наука и техника, 1977. 206 с.
- Журавлев И. И. Болезни цветочных культур. Л. : Изд-во Ленингр. ун-та, 1973. 80 с.
- Зинина Ю. М., Уткина Л. Л., Молканова О. И. Комплексное изучение интродуцированных видов и сортов рода *Syringa* L. // Проблемы современной дендрологии : материалы междунар. науч. конф. М. : Товарищ. науч. изд. КМК, 2009. С. 133–136.
- Калинин Ф. Л., Сарнацкая В. В., Полищук В. Е. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений. Киев : Дух и Литера, 1980. 488 с.
- Митрофанов О. В. Вирусные болезни промышленных цветочных культур и биотехнологические приемы их оздоровления : дис. ... д-ра биол. наук. СПб., 1992. 72 с.
- Митрофанова И. В., Иванова Н. Н., Митрофанова О. В., Челомбит С. В. Соматический эмбриогенез и органогенез *in vitro* – пути регенерации растений *Caladium*

Hortilanum Birdsey // Биология клеток растений *in vitro* и биотехнология : тез. IX междунар. конф. М. : ИД ФБК–ПРЕСС, 2008. С. 250–251.

Митрофанова О. В., Чирков С. Н., Лесникова-Седошенко Н. П. Вирусные болезни косточковых плодовых культур и биотехнологические системы оздоровления растений // Биология клеток растений *in vitro* и биотехнология : тез. IX междунар. конф. М. : ИД ФБК–ПРЕСС, 2008. С. 254–255.

Митрофанова О. В., Митрофанова И. В., Чирков С. Н., Ежов В. Н., Лесникова-Седошенко Н. П. Биотехнологические системы диагностики вируса шарки сливы (*Plum pox virus*) и отбора толерантных сортов косточковых плодовых культур // Актуальные проблемы прикладной генетики и биотехнологии растений : Тр. Никит. бот. сада. Т.131. Ялта, 2009. С. 94–102.

Мокишн Е. В. Морфо-физиологические особенности клонального микроразмножения *in vitro* различных сортов лилий (*Lilium L.*) и гладиолусов (*Gladiolus L.*) : дис. ... канд. биол. наук. Саранск, 2005. 152 с.

Осипова Е. Ю. Технология размножения гладиолуса *in vitro* // Генетика, селекция и биотехнология : 61-я студ. науч. конф. М.: РГАУ–МСХА им. К. А. Тимирязева, 2008. С. 54–55.

Уайт Ф. Р. Культура растительных тканей. М. : Иностран. лит., 1949. 160 с.

Фоменко Т. И., Веевник А. А. Микроразмножение гладиолуса *in vitro* // Биотехнология как инструмент сохранения биоразнообразия растительного мира : материалы III Всерос. науч.-практ. конф. Волгоград, 2010. С. 292–297.

Шакина Т. Н. Поражаемость болезнями гладиолуса гибридного в условиях Нижнего Поволжья // Бюл. Бот. сада. Саратов, 2010. Вып. 10. С. 114–118.

Aftab F., Alam M., Afrasiab H. *In vitro* shoot multiplication and callus induction in *Gladiolus hybridus* hort // Pak. J. Bot. 2008. № 40 (2). P. 517–522.

Dantu P. K., Bhojwanis S. S. *In vitro* propagation and corm formation in *Gladiolus* // Gartenbauwissenschaft. 1987. Vol. 52. P. 90–93.

Emek Y. C., Erdag B. *In vitro* propagation of *gladiolus anatolicus* (Boiss.) Stapf // Pak. J. Bot. 2007. № 39(1). P. 23–30.

Erdag B. B., Emek Y. C., Aktas L. Y. *In vitro* somatic embryogenesis from corm-derived callus cultures of *Gladiolus anatolicus* (Boiss.) Stapf // Propagation of Ornamental Plants. 2009. Vol. 9, № 4. P. 176–180.

Kamo K., Gera A., Cohen J., Hammond J., Blowers A., Smith F. Transgenic *Gladiolus* plants transformed with the bean yellow mosaic virus coat-protein gene in either sense or antisense orientation // Plant Cell Rep. 2005. № 23. P. 654–663.

Prasad V. S. S., Dutta Gupta S. *In vitro* shoot regeneration of *gladiolus* in semi-solid agar versus liquid cultures with support systems // Plant Cell Tiss Organ Cult. 2006. № 87. P. 263–271.

Priyakumari I., Sheela V. L. Micropropagation of *gladiolus* cv. «Peach Blossom» through enhanced release of axillary buds // J. of Tropical Agriculture. 2005. № 43(1–2). P. 47–50.

Ruffoni B., Pamato M., Giovannini A., Brea M. *Gladiolus* micropropagation in temporary immersion system // Propagation of Ornamental Plants. 2008. Vol. 8, № 2. P. 102–104.

Subhash K. R., Gangopadhyay G., Bandyopadhyay T., Modak B. K., Datta S., Mukherjee K. K. Enhancement of *in vitro* micro corm production in *gladiolus* using alternative matrix // African J. of Biotech. 2006. Vol. 5 (12). P. 1204–1209.

*Simonsen J., Hildebrandt A. S.* *In vitro* growth and differentiation of *Gladiolus* plants from callus cultures // *Can. J. Bot.* 1971. Vol. 49. P. 1817–1819.

*Sinha B. P., Roy K. S.* Plant Regeneration through *in vitro* cormel formation from callus culture of *Gladiolus primulinus* Baker // *Plant Tissue Cult.* 2002. № 12 (2). P. 139–145.

*Ziv M.* Organs and plantlets regeneration of *Gladiolus* through tissue culture // *Ann. Bot.* 1970. Vol. 34. P. 671–676.

*Ziv M.* Enhanced shoot and cormlet proliferation in liquid cultured gladiolus buds by growth retardants // *Plant Cell, Tissue and Organ Culture.* 1989. Vol. 17. P. 101–110.

*Ziv M., Lilien-Kipnis H. L.* Bud regeneration from inflorescence explant for rapid propagation of geophytes // *In vitro Plant Cell Rep.* 2000. Vol. 19. P. 845–850.

УДК 581.543.6 : 581.48 : 631.531.1(031)

## К СЕМЕННОМУ РАЗМНОЖЕНИЮ *VERONICA OFFICINALIS* L. В УСЛОВИЯХ КУЛЬТУРЫ

**И. В. Шилова**

*Саратовский государственный университет им. Н. Г. Чернышевского*  
*Учебно-научный центр «Ботанический сад»*  
*410010, г. Саратов, ул. Академика Навашина*  
*e-mail: flor1980@mail.ru*

При проращивании семян вероники лекарственной в лабораторных условиях период от момента закладки семян до начала их прорастания в среднем составляет 7 дней, продолжительность прорастания – 8 дней, минимальный срок прорастания основной массы семян – 4 дня. Наибольшей энергией прорастания (89%) и всхожестью (94%) обладали семена из коробочек верхнего яруса соцветий, а наименьшими показателями отличались семена из нижнего яруса, но разница эта невелика. Предварительная стратификация и отсутствие света при проращивании весьма мало повышают всхожесть семян вероники лекарственной, то есть для прорастания её семян не требуется какой-либо предварительной обработки и особых световых условий. Семена вероники лекарственной способны сохранять всхожесть на уровне 100% более 7 лет.

**Ключевые слова:** вероника лекарственная, семена, проращивание семян.

## TO SEED REPRODUCTION *VERONICA OFFICINALIS* L. IN THE CONDITIONS OF CULTURE

**I. V. Shilova**

At seeds *Veronica officinalis* *in vitro*, the period from the moment of a bookmark of seeds prior to the beginning of their germination on the average makes 7 days, duration of germination – 8 days, the minimum term of germination of a great bulk of