

УДК 502.7+558.085

А.Ю. Набиева
Е.Н. Кайгородова

A.Y. Nabieva
E.N. Kaigorodova

**ВВЕДЕНИЕ В КУЛЬТУРУ *IN VITRO* РЕДКИХ ВИДОВ РОДА *IRIS* –
I. TIGRIDIA BUNGE, *I. HUMILIS* GEORGI, *I. GLAUDESCENS* BUNGE**

**TISSUE CULTURE INTRODUCTION OF RARE SPECIES OF GENUS *IRIS* L. –
I. TIGRIDIA BUNGE, *I. HUMILIS* GEORGI, *I. GLAUDESCENS* BUNGE**

Представлены материалы по введению в культуру *in vitro* трех редких видов р. *Iris*, используя скарифицированные семена и изолированные зародыши, выделенные на стадии относительной автономности. Показаны преимущества эмбриокультуры по сравнению с семенным размножением.

Род ирис (*Iris* L.) широко распространен в северном полушарии, в его состав входит около 200 видов. На территории России произрастает 40 дикорастущих видов этого рода, а в Сибири – 22 вида и 2 подвида (Конспект ..., 2005). Изученные в данной работе 3 вида ирисов являются редкими видами, сокращающими свою численность в результате антропогенной деятельности. *Iris glaucescens* Bunge (Касатик сизоватый) произрастает в Западной Сибири, Казахстане, Монголии и Китае. В России проходит северная граница ареала. Вид включен в список «Редкие и исчезающие растения Сибири» (1980), в «Красную книгу Новосибирской области» (2008) и в «Красную книгу Алтайского края» (2006) со статусом 2. *Iris humilis* Georgi (К. низкий) широко распространен в России и за ее пределами, относится к азиатской ареалогической группе. В России встречается в Восточной и Западной Сибири. Исчезающий вид, численность популяций и ареал сокращаются из-за распашки земель степных и лесостепных районов (Редкие ..., 1980). *Iris tigridia* Bunge (К. тигровый) – субэндемичный центральноазиатский вид. В России растет в Республиках Алтай и Тыва. Редкий вид флоры Сибири, нуждается в государственной охране, включен во все кадастры государственного и общесибирского уровня (Красная книга РФ, 2008; Редкие ..., 1980.). Целью данной работы явилось изучение морфогенетической способности зародышей и скарифицированных незрелых семян редких сибирских видов *I. humilis*, *I. glaucescens*, *I. tigridia* в культуре *in vitro*, а также описание морфологических признаков семян и зародышей данных видов.

Материал и методы. В качестве материала были взяты незрелые семена и зародыши трех видов подрода *Iris* из природных ценопопуляций (Республика Алтай, Новосибирская область). Морфологические признаки семян *I. humilis*, *I. glaucescens*, *I. tigridia* (в 20-кратной повторности каждой популяции) изучали под световой бинокулярной лупой МБС-1 при 2-кратном увеличении. Определяли длину и ширину семени, эндосперма и зародыша, соотношение их показателей. Семена всех трех видов ирисов имели эндосперм в стадии восковой спелости. На день сбора, основываясь на данных массового цветения изучаемых видов в этих же ценопопуляциях, возраст семян составлял 36–48 дней после раскрытия цветка. Семенные коробочки перед работой промывали в течение 0,5 часа в проточной воде. Стерилизацию проводили по схеме: 1) обработка 70%-м этиловым спиртом – 1 мин; 2) промывание в стерильной дистиллированной воде – 5 мин; 3) обработка 4%-м раствором лизоформина – 15 мин; 4) промывание коробочек в стерильной дистиллированной воде три раза по 5 мин. Использовали питательную среду, приготовленную по прописи Мурасиге и Скуга (MS) (Murashige, Skoog, 1962), содержащую 0,6 % агара; pH среды до автоклавирования доводили до 5,6. Незрелые зародыши извлекали из семян и культивировали на питательных средах MS. Варианты питательной среды MS: 1) MS + 0,3 мг/л ВАР*; 2) MS; 3) MS + 1 Kin*; 4) MS + 1 ВАР + 1 NAA; 5) 1/2 MS; 6) MS + 0,3 мг/л ВАР + 0,1 мг/л NAA*. Семена и зародыши проращивали при температуре 22±24° С под люминесцентными лампами с фотопериодом 16/8 часов.

Результаты и их обсуждение. Сравнительный анализ морфологических признаков незрелых семян показал, что семена *I. glaucescens* на 29% крупнее, чем *I. tigridia* и на 83% крупнее, чем семена *I. humilis*. Эндосперм у этих видов занимает от 60 до 88% длины семени, а зародыш – более половины длины эндосперма, что указывает на достаточное его развитие. Зародыш молочного цвета, торпедовидный; в среднем, у *I. humilis* длиной 1,5 мм, у *I. tigridia* – 2,45 мм, *I. glaucescens* – 2,7 мм. Длина зародыша в 4–5

* ВАР – 6-бензиламинопурин; Kin – кинетин; NAA – α-нафтилуксусная кислота.

Таблица 1

Прорастание эксплантов ирисов Subgenus *Iris* в течение первого месяца культивирования в зависимости от содержания регуляторов роста в питательной среде MS

Вид	Тип экспланта	Проросших эксплантов %, варианты питательной среды 1- 6						
		1	2	3	4	5	6	Всего %:
<i>I. tigridia</i>	надрезанное семя	40,0	28,8	35,7	0,0	50,0	12,5	29,3
	зародыш	75,0	66,0	50,0	25,0	50,0	33,3	59,8
<i>I. humilis</i>	надрезанное семя	30,8	40,0	33,3	57,0	5,5	27,3	32,1
	зародыш	28,6	57,1	17,0	55,5	25,0	57,1	40,0
<i>I. glaucescens</i>	надрезанное семя	36,4	41,4	16,2	0	25,0	12,5	21,9
	зародыш	35,3	50,0	28,8	7,5	45,0	25,0	31,9

раз больше его ширины. Соотношение длины зародыша к длине семени составило у *I. humilis* – 0,52; у *I. tigridia* – 0,39; у *I. glaucescens* – 0,24. У зародышей всех видов ирисов заметна дифференциация осевых органов, отчетливо видна граница между семядолей и зародышевым корешком (рис. 1).

Извлеченные из семян зародыши, лишённые плотной к этому времени семенной кожуры и ингибирующего влияния эндосперма, имеют высокую регенерационную активность в культуре *in vitro*. Для зародышей на ранних этапах эмбриогенеза данная способность к росту и развитию наиболее сильно проявляется под влиянием гормональных экзогенных факторов. Для видов Subgenus *Iris* способность изолированных зародышей к прорастанию, выделенных из семян на 36–48 ДПО, была видоспецифичной (табл. 1).

Для *I. tigridia* наибольшее количество проросших зародышей было отмечено на питательной среде №1 с добавлением 0,3 мг/л ВАР –75%, тогда как для *I. humilis* и *I. glaucescens* максимум прорастания зародышей был зафиксирован на среде №2 (MS без регуляторов роста): 57,1 и 50% соответственно. Данный факт позволяет сделать заключение об относительной автономности зародышей ирисов, выделенных на стадии восковой спелости эндосперма (Батыгина, Васильева, 2002).

Известно, что прорастание зрелых семян ирисов в значительной степени ингибируется ороговением эндосперма и плотной семенной оболочкой (Маркова, Конькова, 2010). Нами обнаружено, что у незрелых семян в стадии восковой спелости эндосперма данные факторы также препятствуют их быстрому прорастанию, поэтому в опыте использовали семена, скарифицированные в апикальной части. Выявлено, что в процентном отношении проросших зародышей данных видов ирисов в среднем больше, чем проросших семян. В процессе дальнейшего культивирования полученных проростков было отмечено, что органогенез растений, полученных из зародышей всех исследуемых видов, включал в себя несколько основных стадий, причем с 5–7 дня культивирования отмечали появление первого настоящего листа, а к 30–40 дню культивирования растения находились в ювенильной стадии развития, имели 2–3 листа и развитый первичный корень. Полученные растения-регенеранты уже к концу третьего месяца культивирования находились в имматурной стадии, характеризующейся активным образованием вегетативных органов, наличием хорошо развитой корневой системы, образованием адвентивных побегов (рис. 2). Растения, полученные из скарифицированных семян, характеризовались более низкими темпами органогенеза, вступали в имматурную стадию, начиная с пятого месяца культивирования *in vitro*.

Выводы:

1. При использовании эмбриокультуры для введения в культуру *in vitro* редких сибирских видов ирисов *I. humilis*, *I. glaucescens*, *I. tigridia*; получено больше растений, чем из надрезанных семян.

2. Зародыши данных видов ирисов, изолированные из незрелых семян, собранных на 36–48 день после раскрытия цветка, приобретают свойство относительной автономности.

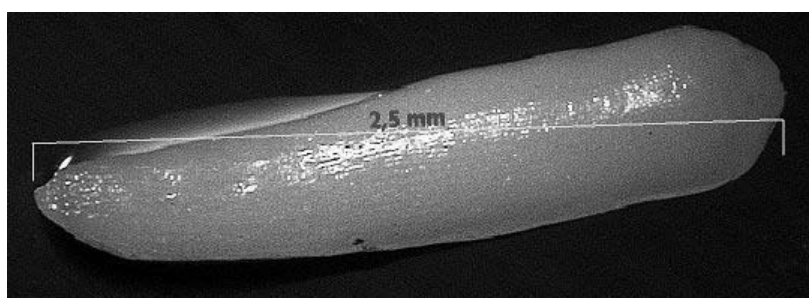


Рис. 1. Зародыш *I. tigridia*, извлеченный на восковой стадии зрелости эндосперма.



Рис. 2. а) имматурное растение *I. glaucescens* (15 недель культивирования *in vitro*), получено из изолированного зародыша; б) растение-регенерант *I. glaucescens*, выделенное из кластера побегов для пересадки *ex vitro*.

3. Темпы органогенеза у растений ирисов, полученных из зародышей, выше, чем у выращенных из семян.

ЛИТЕРАТУРА

- Батыгина Т.Б., Васильева В.Е.** Размножение растений. – СПб.: Изд-во С.-Петербург. ун-та, 2002. – 232 с.
Конспект флоры Сибири: Сосудистые растения / Сост. Л.И. Малышев, Г.А. Пешкова, К.С. Байков и др. – Новосибирск, 2005. – 362 с.
Красная книга Алтайского края. Растения. – Барнаул, 2009. – 262 с.
Красная книга Новосибирской области: Животные, растения и грибы. – Новосибирск: Арта, 2008. – 528 с.
Красная книга РСФСР (растения). – М., 1988. – 590 с.
Маркова Е.М., Конькова Л.И. Развитие особей двух видов рода *Iris* L. в культуре *in vitro* // Вест. Удмуртск. ун-та, 2010. – Вып. 4. – С. 69–73.
Редкие и исчезающие растения Сибири. – Новосибирск, 1980. – 224 с.
Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture // *Physiol. plant*, 1962. – Vol. 15, № 3. – P. 473–497.

SUMMARY

The article represents materials on tissue culture introduction of three rare species of genus *Iris* from scarified seeds and isolated embryos. The advantages of embryo culture were shown in comparison with seed germination.