

УДК 581.143.6:631.436

О. А. Рожанская, Л. И. Инишева, Н. С. Строева, Т. В. Шилова

## ТЕСТИРОВАНИЕ *IN VITRO* РЕГУЛЯТОРНОЙ АКТИВНОСТИ НОВОГО СТИМУЛЯТОРА РОСТА ИЗ ТОРФА

Протестирована биологическая активность препарата ТТС, полученного из торфа. Показано значительное ускорение развития *in vitro* побегов и корней люцерны (*Medicago varia*). Определены эффективные концентрации (0.5–1 мл/л) для использования ТТС в качестве стимулятора микрোকлонального размножения в биотехнологии люцерны.

**Ключевые слова:** стимулятор роста, торф, биологическая активность, культура тканей, микрোকлональное размножение, люцерна, *Medicago varia*.

Торф является практически неограниченным источником дешевого сырья для производства высокоэффективных удобрений, стимуляторов роста и лекарственных средств [1–3]. Новый биостимулятор ТТС произведен в лаборатории агроэкологии ТГПУ из низинного торфа. Он представляет собой водный раствор высокомолекулярных веществ с концентрацией ГК 0.0875 %. Структурные особенности препарата представлены в виде спектральных коэффициентов (ОН/С=C – 0.87; С=О/С=C – 0.97; Салк/С=C – 0.85; ОН/Салк – 1.02; С=О/Салк – 1.14). Количество парамагнитных центров  $3.1 \cdot 10^{16}$  спин/г.

Для определения биологической активности новых препаратов используется культура растительных тканей. Методы дифференцированного тестирования *in vitro* разрабатываются биотехнологами Сибирского НИИ кормов и Института биологических проблем криолитозоны [4, 5]. Перспективным тест-объектом для определения характера регуляторной активности являются стеблевые узлы люцерны (*Medicago varia* Mart.). Включая изучаемые препараты в состав питательной среды и заменяя ими стандартные фитогормоны, по направлению и скорости морфогенеза можно убедиться в наличии или отсутствии биологической активности.

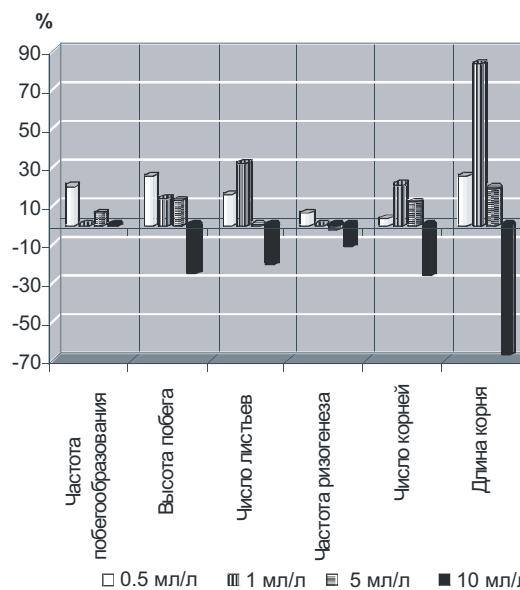
Цель исследования – тестирование *in vitro* регуляторной активности препарата ТТС и определение эффективных доз для использования в биотехнологии.

### Методика

Экспланты стеблевых узлов растений-регенерантов люцерны пассировали для развития и укоренения на среды с минеральной основой Гамборга В5 [6] половинной концентрации ( $\frac{1}{2}$  В5). В контрольном варианте отсутствовали фитогормоны, в экспериментальные среды перед автоклавированием добавляли изучаемый препарат в дозах от 0.5 до 5 мл/л. Опыты имели 3 повторности во времени, объем выборки в каждом варианте составлял 20–30 эксплантов. В качестве тест-функций использовали показатели морфогенеза: частоту образования морфогенных структур (побегов, корней, каллусов), количество их и размеры. Различия средних оценивали с помощью критерия Фишера или непараметрических критериев статистики.

### Результаты исследований

В опытах по микрোকлональному размножению люцерны выявилось сильное стимулирующее действие ТТС в дозе 0.5 мл/л: частота побегообразования и ризогенеза увеличилась на 20 %, значительно ускорился рост побегов и корней (рисунок). Под действием ТТС в дозе 1 мл/л заметно возрастали высота побегов и длина корней, число листьев и корней. Доза 5 мл/л в первые недели культивирования была менее эффективной, а в дальнейшем ингибировала развитие растений. Доза 10 мл/л с самого начала сильно



Эффективность влияния разных доз ТТС на развитие побегов и стеблевых узлов люцерны *in vitro*, % к контролю (среда 1/2 В5, контроль – без гормонов)

угнетала рост побегов и особенно корней снижала частоту ризогенеза.

Таким образом, экспериментально установлена эффективность препарата ТТС в дозе 0.5–1 мл/л в качестве стимулятора микрোকлонального размножения люцерны.

Для тестирования ауксиновой активности ТТС в специальном опыте проведено сравнительное изучение влияния препарата в дозе 1 мл/л и ауксинов ИУК (3-индолилуксусной кислоты) и НУК (1-нафтилук-

Влияние ТТС и ауксинов на морфогенез в культуре стеблевых узлов люцерны *in vitro*

Показатель морфогенеза	1/2 В5 без гормонов (контроль)		1/2 В5+ ТТС 1 мл/л		1/2 В5+ ИУК 1 мг/л		1/2 В5+ НУК 1 мг/л	
	30	73	30	73	30	73	30	73
Период инкубации, дней	30	73	30	73	30	73	30	73
Частота побегообразования, %	100	100	100	100	85	100	100	100
Число побегов на эксплант	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.2
Высота побега, мм	31	86	34	105*	30	85	25*	58*
Число листьев на побег	4.2	9.2	4.1	9.0	4.3	9.2	3.1*	6.6*
Частота ризогенеза, %	20	75	25	95*	10*	95*	0*	15*
Число корней на эксплант	2.5	2.7	1.4*	2.5	3.5*	2.5	0.0*	4.0*
Длина корня, мм	1.6	3.2	3.9*	2.9	0.5*	1.7*	0.0	1.6*
Частота каллусогенеза, %	0	0	0	0	90*	90*	55*	95*

\* Разница средних арифметических с контролем достоверна на 5% -м уровне.

сусной кислоты) в дозах 1 мг/л на морфогенез люцерны при микроклональном размножении (таблица).

На безгормональной среде (контроль) и на средах с добавками ТТС и ИУК стеблевые почки люцерны сформировали по 1 побегу, и только на среде с НУК возникали адвентивные почки. Добавка в среду ТТС увеличила частоту ризогенеза и высоту побегов на 20 %, причем листья на них были крупнее, чем в других вариантах. Оба ауксина угнетали рост и развитие побегов, и особенно – ризогенез в первый месяц инкубации, но индуцировали образование каллусов в базальной части эксплантов. Добавка НУК обеспечила особенно активную пролиферацию каллусной ткани и наибольший ингибирующий эффект в отношении корнеобразования.

Результаты экспериментов говорят о высокой биологической активности препарата ТТС. В дозах 0,5 и 1 мл/л он стимулировал рост побегов и корней в процессе микроклонального размножения люцерны, при повышении концентрации до 5 и 10 мл/л эффект стимуляции постепенно снижался и сменялся ингибированием.

Анализируя характер морфогенетических ответов люцерны на регуляторную активность ТТС в сравнении с ауксинами, можно квалифицировать изучаемый препарат как эффективный стимулятор роста дифференцированных тканей побегов и корней, лишенный способности индуцировать дедифференцировку (каллусообразование).

*Работа поддержана грантом РФФИ (09-05-00235) и Госконтрактом (02.740.11.0325).*

### Список литературы

1. Инишева Л. И. Рациональное использование торфяных ресурсов России как фактор устойчивого развития // Мат-ды междунар. науч.-практ. конф. 12–15 марта 2003 г. Томск, 2003. С. 27–41.
2. Горовая А. И., Орлов Д. С. Гуминовые вещества. Киев: Наукова думка, 1995. 303 с.
3. Юдина Н.В. и др. Оценка биологической активности гуминовых кислот торфов // Химия твердого топлива. 1996. № 5. С. 31–34.
4. Рожанская О. А., Королев К. Г., Юдина Н. В. и др. Биотехнологическое тестирование регуляторной активности продуктов механохимической обработки торфа и древесных отходов // Докл. Россельхозакадемии. 2008. № 3. С. 16–19.
5. Рожанская О. А., Дарханова В. Г., Строева Н. С. и др.. Применение нанобиокомпозигов для стимуляции роста растений *in vitro* / Мат-лы II Междунар. форума по нанотехнологиям (М., 6–8 окт. 2009 г.). URL: <http://rusnanotech09.rusnanoforum.ru/Post.aspx/Show/23686>
6. Gamborg O. L. et al. Nutrient requirement of suspension cultures of soybean root cell // Exp. Cell Res. 1968. Vol. 50. P. 151–158.

Рожанская О. А., доктор биологических наук, зав. лабораторией.

**Сибирский научно-исследовательский институт кормов СО РАСХН.**

Пос. Краснообск, Новосибирская область, Россия, 630501.

E-mail: olgarozhanska@yandex.ru

Инишева Л. И., доктор сельскохозяйственных наук, чл.-корр. РАСХН, зав. лабораторией.

**Томский государственный педагогический университет.**

Ул. Киевская, 60, г. Томск, Томская область, Россия, 634061.

E-mail: inisheva@mail.ru

Строева Н. С., ст. научный сотрудник.

**Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН.**

Пр. Ленина, 41, г. Якутск, Республика Саха (Якутия), Россия, 667980.

Шилова Т. В., ст. научный сотрудник.

**Сибирский научно-исследовательский институт кормов СО РАСХН.**

Пос. Краснообск, Новосибирская область, Россия, 630501.

*Материал поступил в редакцию 04.01.2010*

*O. A. Rozhanskaya, L. I. Inisheva, N. S. Stroeveva, T. V. Shilova*

**IN VITRO TESTING BIOLOGICAL ACTIVITY OF THE NEW GROWTH STIMULATOR OBTAINED FROM PEAT**

There has been tested the biological activity of growth stimulator TTS, obtained from peat. The considerable acceleration of alfalfa (*Medicago varia*) stalks and roots development *in vitro* has been shown. The effective concentrations (0.5–1 ml/l) have been determined for using TTS as microclonal propagation stimulator in alfalfa biotechnology.

**Key words:** *growth stimulator, peat, biological activity, tissue culture, microclonal propagation, alfalfa, Medicago varia.*

Rozhanskaya O. A.

**Siberian Research Institute of Fodder Crops, Russian Academy of Agricultural Sciences, Siberian Branch.**

Krasnoobsk, Novosibirskaya oblast, Russia, 630501.

E-mail: olgarozhanska@yandex.ru

Inisheva L. I.

**Tomsk State Pedagogical University.**

Ul. Kievskaya, 60, Tomsk, Tomskaya oblast, Russia, 634050.

E-mail: inisheva@mail.ru

Stroeveva N. S.

**Institute of Biological Problems of Cryolitozone SB RAS.**

Pr. Lenina, 41, Yakutsk, Russia, 667980.

Shilova T. V.

**Siberian Research Institute of Fodder Crops, Russian Academy of Agricultural Sciences, Siberian Branch.**

Krasnoobsk, Novosibirskaya oblast, Russia, 630501.