

УДК 57.085.1

ПОДБОР ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД ПРИ КЛОНАЛЬНОМ МИКРОРАЗМНОЖЕНИИ РАСТЕНИЙ

Роман Валериевич Папихин

кандидат сельскохозяйственных наук

rom10@mail.ru

Светлана Александровна Муратова

кандидат биологических наук

smuratova@yandex.ru

Андрей Викторович Бекетов

кандидат экономических наук, доцент

andey_beketov@mail.ru

Мичуринский государственный аграрный университет

г. Мичуринск, Россия

Аннотация. В статье рассмотрены отдельные аспекты подбора питательных сред для клонального размножения растений, приведены отличительные особенности отдельных видов питательных сред, перечислены витамины и некоторые органические соединения, которые можно сгруппировать в один исходный раствор, установлен эффективный метод микроразмножения и сохранения *in vitro* посредством прямого и непрямого органогенеза из семян и листовых эксплантатов.

Ключевые слова: клональное микроразмножение, питательная среда, культивирование растений в условиях *in vitro*, прямой и непрямо́й органо́генез из семян и листовых эксплантатов.

Состав искусственной питательной среды на основе минеральных солей является жизненно важным для культивирования растений методами биотехнологии. Минеральные соли регулируют рост и морфологию растений.

Потребности в питательных веществах различаются у разных видов растений, это связано с особенностями произрастания в естественных условиях и в связи с этим различиями в физиологических процессах. Эти различия привели к разработке многих протоколов питательных сред, такой отбор или модификация какой-либо известной среды для реализации конкретной цели может быть очень сложной и потребует много времени.

Подбор питательных сред проводят на основе истории среды или ее предшествующего использования на определённых видах растений и системы культуры тканей. Однако базовая среда, выбранная на основе ранее проведённых исследований, может не дать стабильного результата [1, 5].

В отличие от модельных растений в культуре тканей, например, таких как табак (*Nicotiana tabacum* L.), существует громадное количество видов растений, имеющих проблемы при культивировании в культуре *in vitro*. Рецептuru общеизвестной питательной среды MS была оптимизирована для табака, однако, получила широкое распространение, поскольку многие другие виды растений хорошо росли на ней [4].

М.В. Гринвей с коллегами работая над подбором питательных сред, указывает, что, например, растения можно предсказуемо регенерировать лишь из нескольких сортов хлопчатника (*Gossypium hirsutum* L.), риса (*Oryza sativa* L.), кукурузы (*Zea mays* L.), что ограничивает прогресс в генетическом улучшении этих культур [2].

Большинство исследований, направленных на решение этих проблем сосредоточено на регуляции роста растений за счёт физиологически активных веществ для стимулирования пролиферации, ризогенеза или каллусогенеза неподатливых генотипов.

Значительно меньше исследований, посвящены минеральному питанию, то есть составу микро- и макро элементов в среде.

Технологии культуры тканей растений позволяют выращивать целые растения, органы, ткани или клетки в контролируемых асептических условиях, где все питательные вещества, энергия и вода, необходимые для роста растений или эксплантов поступают через питательную среду. Кроме того, контролируемые условия инкубации обеспечивают оптимальные настройки освещения и температуры для стимулирования роста. При этом, морфогенез растений можно регулировать путем добавления физиологически активных веществ на определенных стадиях роста.

Во всём научном сообществе до сегодняшнего дня не прекращаются попытки оптимизации и адаптации искусственных питательных сред для разных видов растений или конкретных генотипов, а также для разных этапов развития, таких как, например, размножение микропобегов или их укоренение. В большинстве этих исследований по оптимизации использовалась питательная среда MS (Murashige, Skoog) но, иногда компоненты среды MS были настолько не эффективны, что положительного результата не было достигнуто [3].

В подобном случае Е. Херман в качестве альтернативной основной среды для оптимизации рекомендует использование среду BABI (Arkansas Biosciences Institute), среда B5 или среда Гамборга. В питательной среде BABI используется несколько иной набор солей макроэлементов, чем в MS, при этом нитраты от аммония отделяются в разных солях, поэтому можно более точно спрограммировать её для конкретного вида или генотипа, чтобы привести к различным конечным результатам.

Среда BDS (среда Гамборга (B5) в модификации Данстана и Шорта) успешно использовалась для регенерации видов лука (*Allium fistulosum* L. и *Allium sativum* L.), а также риса [4].

Питательные среды BDS и B5 содержат более высокий уровень нитрат калия, чем MS, что может эффективно для культивирования хлопка и соевых бобов. При этом концентрация нитрата аммония в MS намного выше, чем в BDS, B5, среде Уайта, SH (Schenk, Hildebrandt), PC-L2).

Таким образом, за продолжительный период исследований было предложено несколько общеизвестных питательных сред для культивирования разных видов растений. Основные из них: QL, B5, BDS, BABI, MS, MMS, WPM, DKW [4].

Существуют и другие составы базальных сред, которые были разработаны для определённых видов растений и /или их органов. Например, Дж.П. Нитч была оптимизирована среда для культуры пыльников табака. В дальнейшем её использовали для получения других гаплоидных растений. Данная питательная среда содержит примерно вдвое меньше общего азота, чем MS, но с аналогичным соотношением аммония и нитрата. По мнению А. Ферри и К. Касвелла, снижение содержания азота способствует индукции андрогенеза.

Точно так же среда NLN, предложенная Р. Лихтером (Lichter, 1982) была разработана для изолированной культуры микроспор *Brassica napus* L. и содержит очень мало общего азота, а соли аммония в ней вообще отсутствуют.

Кроме сред, разработанных для традиционного клонального микроразмножения, имеются протоколы для культуры протопластов, например, среда К. Као и М. Мичайлюка, которая стала базовой для культур протопластов многих видов растений. Данная среда более насыщена витаминами, аминокислотами, органическими кислотами и сахарами. Такой состав компонентов обеспечивает продуцирование многочисленных метаболитических предшественников, которые позволяют протопластам восстанавливать клеточные стенки и инициировать клеточные деления.

Протоколы культуры тканей все чаще используются для высокопроизводительного фенотипирования, например, для скрининга большого количества регенерированных *in vitro* растений или проросших *in vitro* семян на предмет определенного трансгенного или мутантного фенотипа с использованием автоматизированной системы мультиспектральной визуализации [2].

Несмотря на то, что готовые среды MS и B5, а также их модификации коммерчески доступны, многие биотехнологические лаборатории готовят среды

самостоятельно, используя группы отдельных химических компонентов в качестве исходных растворов. Соли макроэлементов (N, P, K, Mg и S) обычно готовят в 10- или 100-кратном маточном растворе. Соли кальция выделяют в отдельный маточный раствор, поскольку при включении кальция в исходный раствор макронутриентов образуются нерастворимые соли фосфата кальция. Железо-этилендиаминтетрауксусная кислота (FeEDTA) производится в виде отдельного исходного материала с использованием эквимольных количеств $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ и Na_2EDTA , а исходный раствор FeEDTA необходимо автоклавировать перед использованием, чтобы обеспечить максимальное образование FeEDTA, поскольку ЭДТА может вступать в реакцию с другими элементами, особенно с некоторыми микроэлементами [4].

Соли микроэлементов (B, Mn, Zn, Mo, Cu, Co и I) группируют в один 100- или 1000-кратный исходный раствор. Запасы солей макро- и микроэлементов можно автоклавировать для хранения или замораживать. Для приготовления сред определенного химического состава предпочтительна вода двойной перегонки или обратного осмоса.

Витамины и некоторые органические соединения (обычно тиамин, пиридоксин, никотиновая кислота и мио-инозитол) можно сгруппировать в один исходный раствор (100×), но этот исходный раствор следует хранить в холодильнике и не автоклавировать перед приготовлением питательной среды.

Регуляторы роста также могут быть приготовлены в виде индивидуальных исходных растворов в концентрации 1 мг/мл и храниться в холодильнике (эти органические соединения не следует автоклавировать, за исключением окончательно приготовленной среды). Некоторые термочувствительные органические соединения могут быть добавлены в автоклавируемую среду после стерилизации фильтром. Углеводы, такие как сахара, обычно добавляют в базальную среду в сухом виде, но некоторые лаборатории предпочитают стерилизовать углеводы фильтрованием, поскольку автоклавирование может привести к их разрушению или карамелизации. Желирующие агенты, такие как различные типы агаров, агароза, желлановая камедь или альгинат кальция,

действительно оказывают выраженное влияние на реакцию культуры тканей растений.

Методы размножения *in vitro* используются в качестве альтернативного способа размножения и сохранения редких и находящихся под угрозой видов растений со слабой и неопределенной реакцией на традиционные методы размножения.

В связи с этим, по мнению Ф. Энгельмана, стандартная среда культивирования может быть эффективно использована для краткосрочной и среднесрочной консервации зародышевой плазмы растений *in vitro* за счет увеличения интервалов между субкультивированием у медленно растущих видов.

В исследованиях Б. Гаши с коллегами был установлен эффективный метод микроразмножения и сохранения *in vitro* посредством прямого и непрямого органогенеза из семян и листовых эксплантатов. Семена растений видов *Ramonda* были собраны из разных популяций пророщены на питательной среде JG-B без какого-либо фитогормона. Наибольшее количество побегов и скорость размножения наблюдались на среде JG-B с добавлением БАП и ИУК (0,5 мг/л), тогда как наибольшее количество листьев на проростках было обнаружено на средах WPM и RA с добавлением БАП и ИУК (0,1 мг/л). На этой стадии микроразмножения у проростков из разных популяций наблюдались некоторые существенные различия [4].

Непрямой органогенез из частей листьев природных растений не увенчался успехом. С другой стороны, части листьев микроразмноженных проростков, выращенных на среде MS с добавлением различного соотношения БАП и ИУК, привели к лучшей регенерации побегов. Сохранение *in vitro* микроразмноженных растений при более низкой температуре (4 °C) оказало значительный положительный эффект при хранении более 12 месяцев.

Таким образом, подбор питательных сред при клональном микроразмножении растений является важным и трудоемким занятием. Зачастую от правильного выбора питательной среды зависит скорость роста и

степень развития растений. По этой причине выбор питательной среды является основой любого процесса при микроклональном размножении растений.

Исследования проводились в рамках договора на выполнение научно-исследовательских работ от 30.01.2025 г. №4/НИР по теме «Возделывание в защищенном грунте и экономическое обоснование режима инфракрасной сушки малины и ежевики»

Список литературы:

1. Бекетов А. В. Состояние овощеводства в России и факторы роста урожайности овощей // Продовольственная безопасность в условиях международных санкций: сборник научных трудов. Мичуринск: Мичуринский государственный аграрный университет, 2017. С. 247-251. EDN UPKEXM.

2. Влияние спектрального состава светодиодного досвечивания на рост и развитие микрорастений рода *Rubus* L. на этапе адаптации / М. Л. Дубровский, Р. В. Папихин, С. А. Муратова и др. // Достижения науки и техники АПК. 2024. Т. 38, № 9. С. 17-24. DOI 10.53859/02352451_2024_38_9_17. EDN KOIBZT.

3. Муратова С. А., Шорников Д. Г., Янковская М. Б. Размножение садовых культур *in vitro* / Мичуринск: Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и селекции плодовых растений им. И. В. Мичурина, 2008. 68 с. ISBN 978-5-88934-379-0. EDN BQAGDB.

4. Папихин Р. В., Муратова С. А., Коротков А. А. Применение цеолитсодержащих препаратов на этапе адаптации микрорастений // Селекция и сортоизучение плодовых и ягодных культур: сборник научных трудов международной научно-практической конференции, Кинель, 16–17 ноября 2023 года. Кинель: Самарский государственный аграрный университет, 2024. С. 96-102. EDN QMAVKV.

5. Современное состояние и эффективность овощеводства в Российской Федерации / Л. А. Смирнова, А. В. Никитин, И. А. Минаков, А. В. Бекетов // Экономика сельскохозяйственных и перерабатывающих предприятий. 2010. № 1. С. 42-45. EDN KZKPXV.

UDC 57.085.1

SELECTION OF NUTRIENT MEDIA FOR CLONAL MICROPROPAGATION OF PLANTS

Roman V. Papikhin

candidate of agricultural sciences

parom10@mail.ru

Svetlana Al. Muratova

candidate of biological sciences

smuratova@yandex.ru

Andrey V. Beketov

candidate of economic sciences, associate professor

andey_beketov@mail.ru

Michurinsk State Agrarian University

Michurinsk, Russia

Abstract. This article examines specific aspects of selecting nutrient media for clonal plant propagation, presents the distinctive properties of individual types of nutrient media, lists vitamins and some organic compounds that can be grouped into a single stock solution, and establishes an effective method for micropropagation and in vitro preservation through direct and indirect organogenesis from seeds and leaf explants.

Keywords: clonal micropropagation, nutrient medium, in vitro plant cultivation, direct and indirect organogenesis from seeds and leaf explants.

Статья поступила в редакцию 25.02.2026; одобрена после рецензирования 20.03.2026; принята к публикации 31.03.2026.

The article was submitted 25.02.2026; approved after reviewing 20.03.2026; accepted for publication 31.03.2026.