

ИЗУЧЕНИЕ СТРУКТУРЫ И ФУНКЦИОНАЛЬНОСТИ КОРНЕЙ *IN VITRO* С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МОДЕЛЕЙ РИЗОГЕНЕЗА

Булавин Илья Владимирович¹, Сидякин Андрей Иванович^{1,2}, Дандрук Мавиле Эльдаровна¹

¹ФГБУН «Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН», РФ, Ялта

²ИБТЭФ ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского», РФ, Симферополь
cellbiolnbs@yandex.ru

Укоренение является важным этапом клонального микроразмножения для различных видов растений и, как правило, для индукции данного процесса используют индолил-3-уксусную кислоту (ИУК) или ее аналоги, а также безгормональные питательные среды с уменьшенным содержанием макро-, и микроэлементов. В подавляющем большинстве работ по клональному микроразмножению растений происходит констатации факта наличия корней и определение их некоторых количественных и качественных признаков. Поэтому целью данного исследования было определение структуры и функциональности корней, полученных в культуре *in vitro* с использованием двух моделей ризогенеза: 1) из каллуса 2) и черешков листовых эксплантов. Асептические растения *Arabidopsis thaliana* Col-0 получали из семян на модифицированной питательной среде Мурасиге-Скуга (МС) без регуляторов роста. Каллусогенез индуцировали на среде МС, содержащей 2,4-Д и кинетин в концентрации 1 мг/л и 0,05 мг/л, соответственно. Формирование корней *de novo in vitro* на черешках листовых эксплантов и каллусе инициировали на среде МС, содержащей 1/10 часть минеральных солей, а также среде 1/10 МС с добавлением индолил-3-масляной кислоты (ИМК) (2,0 мг/л). Исследование анатомии и ультраструктуры корней *in vitro* проводили согласно общепринятым методам. Определение общей, рабочей и недействительной поверхности корневой системы выполняли согласно методу Сабина и Колосова в модификации. В нашем исследовании формирование корней из каллуса отмечали на среде 1/10 МС с добавлением ИМК и без регулятора роста. Морфологические исследования показали наличие разных по толщине корней, при этом их ветвление при культивировании свыше 2 недель отмечено на среде с добавлением ИМК. Установлено, что корни формировались *de novo* из меристематических очагов по периферии каллуса. Анатомически выявлены сросшиеся между собой корни, имеющие корневой чехлик и ростовые зоны, а также корни с укороченной меристемой. На черешках листовых эксплантов, культивируемых на среде 1/10 МС, корни образовывались из очагов, возникавших вследствие деления клеток в области проводящего пучка. Для данного типа корней отмечено достоверное увеличение зоны меристемы, в сравнении с таковой корней, образованных из семени, при этом для первых на уровне ультраструктуры показана полная дифференциация клеток. Отмечено, что корни, полученные из каллуса и черешков листовых эксплантов, характеризовались снижением процента рабочей и увеличением недействительной поверхности корневой системы. Т. о. установлено, что корни, полученные из каллуса, в большей степени характеризуются измененной структурой, из черешков листовых эксплантов – подобны корням, полученным из семян. Функциональность поверхности корней *in vitro* в двух моделях ризогенеза снижена относительно корней, которые формировались у проростков.

Ключевые слова: *Arabidopsis thaliana*, ризогенез *in vitro*, структура, функциональность.

AN *IN VITRO* ROOT STRUCTURE AND FUNCTIONALITY INVESTIGATION USING MODELS OF RHIZOGENESIS

Bulavin Iliya Vladimirovich¹, Sidyakin Andrei Ivanovich^{1,2}, Dandruk Mavile Eldarovna¹

¹*FSFIS “Nikita Botanical Gardens – National Scientific Center of the RAS”, RF, Yalta*

²*IBTEP FSAUEI HE “V.I. Vernadsky Crimean Federal University”, RF, Simferopol*
cellbiolnbs@yandex.ru

Rooting is an important step in clonal plant micropropagation and typically indolyl-3-acetic acid (IAA) or its analogs are used for this process induction as well as hormone-free culture media with reduced macro-, and micronutrients. In the overwhelming majority of published works on clonal micropropagation, the fact of the root presence is stated and some of their quantitative and qualitative features are determined. Therefore, the objective of the present investigation was to determine the structure and functionality of roots, obtained *in vitro* using two models of rhizogenesis: 1) from callus 2) and leaf explant petioles. Aseptic *Arabidopsis thaliana* Col-0 plants were grown from seeds on modified Murashige-Skoog nutrient medium (MS) without growth regulators. Callusogenesis was induced on the modified MS medium containing 2.4-D and kinetin at 1 mg/l and 0.05 mg/l, respectively. *De novo in vitro* root formation on leaf explant petioles and callus was initiated on one-tenth strength MS medium, and on the same medium supplemented with indolyl-3-butyric acid (IBA) (2 mg/l). An *in vitro* root anatomy and ultrastructure investigation was carried out according to generally accepted methods. The determination of the total, active and inactive root surface was performed according to the Sabinin and Kolosov method with modifications. In our study, the root formation *in vitro* from callus was observed on 1/10 MS medium with IBA and without this growth regulator. Morphological analysis showed the presence of roots of various thicknesses, while their branching during cultivation for more than 2 weeks was noted on the medium with IBA. According to histological analysis, roots were formed *de novo in vitro* from meristematic loci along the periphery of the callus. Anatomically, fasciated roots with a root cap and root growth zones were determined, as well as roots with a decreased meristem zone. On the leaf explant petioles cultivated on the 1/10 MS medium, the roots formed from loci that arose during cell division in the vascular bundle, and had all growth zones. For this type of roots, a reliable increase of the meristem zone was noted, in comparison with those roots formed from the seed, while at the ultrastructure level, their complete cell differentiation was shown. It was noted that the roots obtained from the callus and leaf explant petioles were characterized by a decrease in the percentage of the active root system surface and an increase in the inactive one. So, it was found that the roots obtained from callus were characterized by an altered structure, while from the leaf explant petioles were similar to those roots obtained from seeds. The functionality of roots *in vitro* was reduced in both investigated models in comparison with seedlings.

Keywords: Arabidopsis thaliana, rhizogenesis in vitro, structure, functionality.