

ОРЛОВА И.Г., *АТАМАНЧЕНКО М.П., ЛАПЕНКО М.А.,
ПИВОВАРОВА И.А.

ФГБУ ВПО «Ставропольский государственный университет»,
НОЦ «Технологии живых систем и биологические материалы»,

*ГНУ Ставропольский научно-исследовательский
институт сельского хозяйства РАСХН
Ставрополь, Россия

КУЛЬТУРА IN VITRO РАЗНЫХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ МЕСТНОЙ И ИНТРОДУЦИРОВАННОЙ ФЛОРЫ

В работе приводятся экспериментальные данные по введению в культуру in vitro фармакопейных видов лекарственных растений местной флоры: ландыша закавказского (*Convallaria transcaucasica* Utkin), л. майского (*C. majalis* L.), горицвета весеннего (*Adonis vernalis* L.), зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum* L.) и растения-интродуцента руты душистой (*Ruta graveolens* L.). Из растений, применяемых в народной медицине, нами изучались пион узколистый (*Paeonia tenuifolia* L.), ирис карликовый (*Iris pumila* L. s.), лаванда узколистая (*Lavandula angustifolia* Mill.).

Лекарственная ценность изучаемых видов не вызывает сомнений и обусловлена высоким содержанием в тканях различных биологически активных веществ, в том числе ценных сердечных гликозидов, алкалоидов, дубильных веществ, эфирных масел, органических кислот и т.д.

В качестве эксплантов использовались фрагменты корневищ, стеблей, листьев, черешков, соцветий, почек и т. д. Растения отбирались в местах естественного произрастания (ботанических заказниках – урочища Шалево и Новомарьевской поляны, расположенных вблизи г. Ставрополя), коллекциях Ставропольского ботанического сада в течение вегетации. Испытывались разные соотношения фитогормонов ауксинов (2,4D, ИУК), цитокининов (кинетин, 6-БАП), а также антиоксидантов (активированный уголь, аскорбиновая кислота) на основе питательной среды Мурасиге-Скуга. Для стерилизации эксплантов применяли: этиловый спирт (1-2 мин.), 6% раствор аптечного хлорамина Б и 0,05% раствор хлоргексидина (10-20 мин.).

Получены положительные экспериментальные результаты со всеми изучаемыми объектами. Наиболее легко индуцировался каллус из проростков зверобоя, лаванды, и руты. Каллус руты обладал высокой регенерационной способностью, поэтому наряду с каллусогенезом отмечалось активное побегообразование и формирование растений-регенерантов. Укореняли растения - регенеранты на среде Уайта без гормонов с половинным содержанием витаминов и сахарозы.

Первичный каллус ландыша был получен при повторном пассировании на свежую питательную среду МС с соотношением ауксинов и цитокининов 10:1. Жизнеспособность каллуса ландыша оказалась невысокой, и рост клеток прекратился через 1-1,5 месяца. Из почек *P. tenuifolia* удалось индуцировать каллус, но он не отличался высокой жизнеспособностью и выдержал лишь два пассирования на свежую питательную среду. Нами был получен каллус у *A. vernalis*, морфологически он мог быть как рыхлым, так и компактным и его жизнеспособность была еще ниже, чем у пиона. Необходимо отметить высокий процент гибели эксплантов пиона, горицвета. Через три-пять дней отмечалось потемнение тканей и гибель эксплантов. Антиоксиданты (аскорбиновая кислота, активированный уголь) не оказали должного эффекта.

У *Iris pumila* и *Convallaria majalis* не был индуцирован каллус, но отмечалось образование побегов, эмбриоидов, микроклонов.

У лаванды узколистной каллусогенез наблюдался менее чем через две недели, и можно было на первичной среде наработать каллусной ткани 2/3 объема колбы на 250 мл. Наилучшие показатели каллусогенеза получены при содержании в питательной среде МС 2,4D в концентрации 1мг/л, ИУК - 0,5 мг/л и кинетина – 0,5 мг/л. Каллусная ткань лаванды сохраняла метаболическую активность. Биохимические анализы (титрометрический метод и ТСХ) каллуса подтвердили содержание всего набора биологически активных веществ (флавоноиды, дубильные вещества, органические кислоты, сахара), присутствующих в интактном растении. Кроме того, клеточный сок 7- и 15-дневного каллуса и культуральной жидкости агаровой среды выращивания обладал антибактериальной активностью в отношении *E. coli* М 17 и дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* (Бостанова и др., 2006).

Из-за проблематичности прорастания семян ландыша, пиона, горицвета, ириса были трудности по введению в культуру *in vitro* этих видов растений. Из 13 изучаемых факторов воздействия на жесткие покровы семян пиона эффективными оказались два фактора - попеременное воздействие высоких и низких температур и обработка семян жидким азотом (Орлова, Атаманченко, 2010). Семена пиона, ириса, ландыша характеризовались высокой инфицированностью, поэтому их проростки быстро погибали. Практическое применение в фитобиотехнологии имеет суспензионная культура, но нами не было получено положительных экспериментальных результатов по культивированию каллусных тканей изучаемых видов растений в жидкой питательной среде, поэтому требуется дальнейшее продолжение научных исследований в этом направлении.