

Введение в культуру *in vitro* редких и исчезающих лекарственных растений.

И.А. Пивоварова, Е.В. Пещанская*

ФГАОУ ВПО «Северо-Кавказский федеральный университет»,

*Государственное научное учреждение Ставропольский

ботанический сад им. В.В. Скрипчинского Ставропольского

НИИСХ Россельхозакадемии.

Сохранение и пополнение, научное и практическое использование биологического разнообразия мировых растительных ресурсов, состояние которых в природе вызывает серьезное опасение, являются на сегодняшний день одними из актуальнейших задач ботанических садов. Особенно это касается эндемичных, редких и исчезающих видов растений, для которых в силу биологических особенностей восполнение вида естественным путем затруднено, а культивирование в полевых условиях в производственных масштабах проблематично. Интродукция многих видов растений невозможна в силу опять же их биологических особенностей: низкая всхожесть семян, проростки растений имеют слабую жизнеспособность в условиях климата Ставропольской возвышенности (Ставропольского края). Перечисленные факторы отрицательно влияют на возделывание лекарственных и ценных декоративных видов растений, представителей культурной и дикорастущей флоры [1].

Достижения научно-технического прогресса немыслимы без внедрения принципиально новых биотехнологий в производство. Значительное место в разработке приоритетных направлений науки занимает метод культуры изолированных клеток, тканей и органов растений. С помощью этого метода представляется возможным резко повысить морфогенетический потенциал растительного организма в интересах хозяйственной деятельности человека. Метод позволяет решить ряд практических проблем, таких как получение сортовых линий на основе соматоклональной изменчивости, гаплоидов и гомозиготных растений с применением мутагенов и стрессовых условий, массовое размножение оздоровленных растений, получение биологически активных соединений и т. д. [2, 3].

В настоящее время пришло понимание, что лекарственные растения имеют огромное значение, и их не могут полностью заменить синтетические лекарственные препараты. С той же поспешностью, с какой 100 лет назад отвергали лекарственные растения, сейчас к ним возвращаются вновь, но на другом уровне познания, имея в своем распоряжении другие методы их выделения, более полные научные сведения и возможности в области

фармакологии. Тщательному исследованию подвергаются не только традиционные лекарственные растения, но и малоизученные.

Большое теоретическое и практическое значение имеют алкалоиды, сапонины, дубильные вещества, эфирные масла, органические кислоты и т. д. Из 100 тысяч лекарственных средств, применяемых в мировой медицинской практике, лечебные препараты из растений составляют свыше 30%. В нашей стране из общего количества лекарственных средств препараты из растений составляют около 40%. При этом, для лечения ряда заболеваний многие растительные средства являются незаменимыми. [4]

Нанесение ущерба естественным ресурсам из-за заготовки сырья лекарственных растений в больших объемах вызывает проблему сохранения местного генофонда и биологического разнообразия флоры, которая может быть решена биотехнологическими методами, а именно методом *in vitro*. Целью нашей работы является введение в культуру *in vitro* разных видов лекарственных растений местной и интродуцированной флоры.

Объекты наших исследований: редкие и исчезающие виды лекарственных растений местной и интродуцированной флоры: синюха голубая (*Polemonium coeruleum* L.), ландыш майский (*Convallaria majalis* L.), левзея сафлоровидная (*Rhaponticum carthamoides* Wild), термопсис ланцетный (*Thermopsis lanceolata* R.Br), астрагал шерстистоцветковый (*Astragalus dasyanthus* L) , ферула вонючая (*Ferula assafoetida* L.), морозник кавказский (*Helleborus caucasicus* A.Br.), амми зубная (*Ammi visnaga* L.), амми большая (*A. majus* L.), адонис весенний (*Adonis vernalis* L.), момордика харанти (*Momordika charantia* L.) , копытень европейский (*Asarum europaeum* L.), горечавка желтая (*Gentiana lutea* L.), шаровница точечная (*Globularia punctata* Lapeyr.), белокопытник гибридный (*Petasites hybridus* (L.) G. Gaertn., B.Mey. & Scherb.).

В качестве эксплантов использовались фрагменты корневищ, стеблей, листьев, черешков, соцветий, почек и т.д. Такие растения, как синюха голубая, ландыш майский, адонис весенний, копытень европейский, горечавка желтая, шаровница точечная, белокопытник гибридный отбирались с делянок коллекций Ставропольского ботанического сада, а остальные виды - из коллекции семян.

Из-за проблем связанных с прорастанием семян ландыша, левзеи, астрагала, ферулы возникли трудности по введению в культуру *in vitro* этих видов растений.

Все семена проращивали в чашках Петри на фильтровальной бумаге, смоченной дистиллированной водой. С целью повышения асептического эффекта и снижения инфицированности семян, их выдерживали в 0,05% растворе хлоргексидина с последующей промывкой в проточной воде.

Положительные результаты по получению всходов из семян растений наблюдались у амми зубной, а. большой, момордики харантии, термопсиса ланцетного.

Амми зубная (*Ammi visnaga* L.) – процесс набухания семян отмечался на второй день, на пятый день прорастания количество набухших семян составляло 26% . Всего процент всхожести составил 35 % при температуре 19-21 °С.



Рис.1 Прорастание семян Амми зубной.

Амми большая (*Ammi majus* L.) –набухание семян отмечалось на второй день прорастания, на пятый - количество набухших семян составляло 16%. Всего процент всхожести составил 26% при температуре 19-20 °С.

Прорастание семян момордики харантии и термопсиса ланцетного наблюдалось только после процесса скарификации. Для этого у семян полностью удалялась наружная семенная оболочка, что позволило получить 100%-ную всхожесть прорастания.

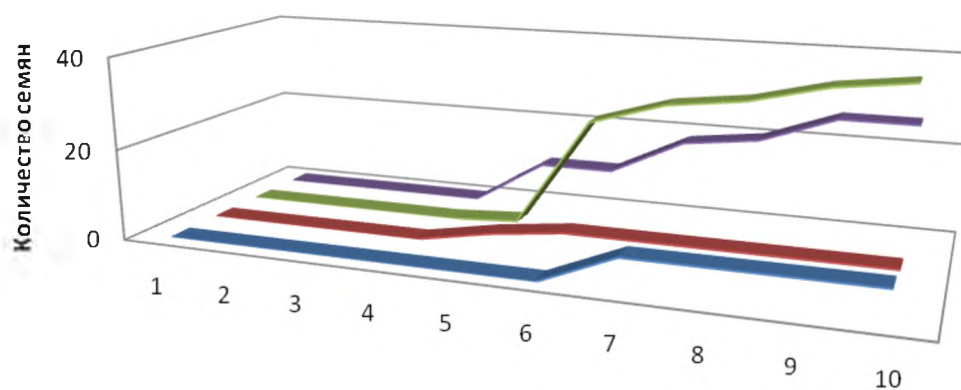


Рис. 2 Проростки семян момордики



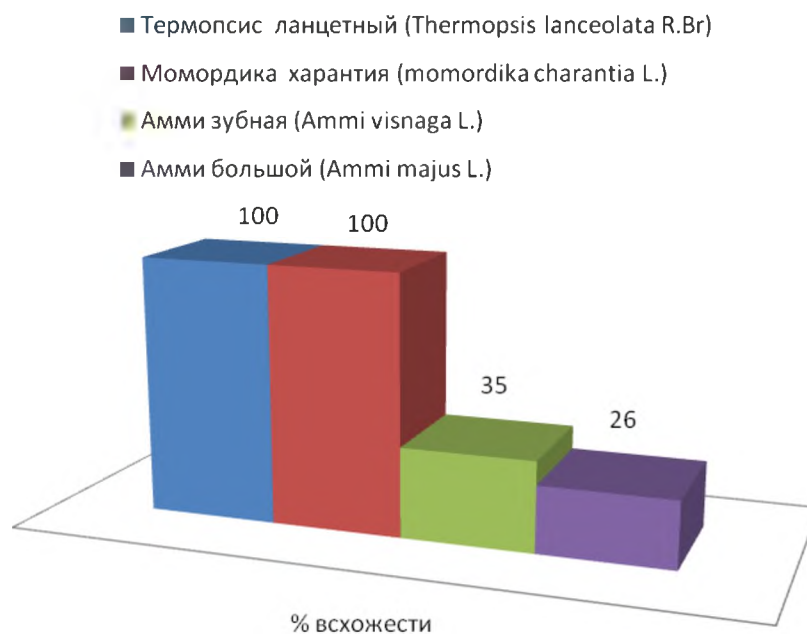
Рис. 3 Семена термопсиса

Всхожесть семян



	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
■ Термопсис ланцетный (Thermopsis lanceolata R.Br)	0	0	0	0	0	0	7	7	7	7
■ Момордика харантия (momordika charantia L.)	0	0	0	0	3	5	5	5	5	5
■ Амми зубная (Ammi visnaga L.)	0	0	0	0	1	25	30	32	36	38
■ Амми большой (Ammi majus L.)	0	0	0	0	10	10	18	20	26	26

Всхожесть семян в % соотношении



Проростки семян амми, момордики, термопсиса и экспланты растений синюхи голубой, ландыша майского, адониса, копытня европейского, горечавки, шаровницы, белокопытника высаживались на питательную среда Мурасиге-Скуга с разным соотношением фитогормонов: ауксинов (ИУК, 2,4 D), цитокининов (кинетин, 6-БАП). Для стерилизации эксплантов применяли: этиловый спирт (1-2 мин.), 6% раствор хлорамина Б и 0,05% раствор хлоргексидина (10-20 мин.)

Экспланты растений амми, термопсиса, момордики на пятый день культивирования оставались живыми, но не отмечалось никаких морфогенетических изменений. У амми, момордики ростовые процессы начались с 10-го и 43-го дня культивирования в условиях *in vitro*. Жизнеспособность тканевой культуры амми оказалась невысокой, и рост клеток прекратился через два месяца культивирования, эксплант потемнел и погиб.



Рис. 4 Амми зубная на 13 день культивирования. Рис.5 Амми зубная (59 дней культивирования)

Из-за сильной инфицированности экспланты остальных растений были нежизнеспособными и погибли.

Таким образом, лекарственные растения, взятые нами в качестве объектов изучения, оказались проблемными для культуры *in vitro* и, поэтому необходимо дальнейшее проведение научных исследований по подбору режимов стерилизации эксплантов, состава питательных сред для культивирования, сохранения жизнеспособности изолированных тканей и индуцирования в них процессов морфогенеза.

Список литературы

1. Орлова И.Г., Атаманченко М.П. Биотехнологические методы в интродукции и сохранении биологического разнообразия растений. [Электронный ресурс].–2008. – Режим доступа: http://www.rusnauka.com/ /16_NTP_2008/Biologia/34088.doc.htm –
2. Калинин Ф. Л., Кушнер Г. П., Сарицкая В. В., Технология микрклонального размножения растений. Отв. ред. Лобов В. П. АН Украины. Ии-т физиологии растений и генетики.— Киев: Наук, думка, 1992.—С.3.
3. Бутенко Р.Г. Клеточные технологии для получения экономически важных веществ растительного происхождения//Культура клеток и биотехнология/ Под ред. Бутенко Р.Г. - М.: Наука, 1986. - С.3.
4. Гончарова Т.А.Энциклопедия лекарственных растений/ Издательский Дом МСП, 1997. –С.2.