

Зарипова А.А., Ахметова А.Ш.

Учреждение Российской академии наук Ботанический сад-институт
Уфимского научного центра РАН, г. Уфа

РАЗМНОЖЕНИЕ В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO RHAPONTICUM CARTHAMOIDES (WILLD.) ILJIN*

Изучены условия культивирования рапонтника сафлоровидного *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iljin *in vitro*, свидетельствующие о возможности эффективного применения метода культуры тканей для его размножения. В качестве эксплантов для клонального размножения рекомендуется использовать части проростков, характеризующиеся высокой морфофизиологической активностью.

Ключевые слова: культура тканей и органов растений, клональное микроразмножение, рапонтник сафлоровидный.

Rhaponticum carthamoides (Willd.) Iljin (рапонтник сафлоровидный, левзея сафлоровидная, стеммоканта сафлоровидная) пользуется большим спросом как в народной, так и в научной медицине. Этот вид является редким [4]. Вследствие интенсивного и нерегулируемого сбора сырья в больших масштабах запасы их истощаются, поэтому так остро стоит проблема рационального использования и сохранения биоразнообразия. *Rhaponticum carthamoides* содержит стероидные соединения (фитоэкдизоны), которые обуславливают широкий спектр фармакологического действия. Экстракты корней и корневищ растения используют в качестве тонизирующей пищевой и кормовой добавки, стимулирующего адаптогенного, анаболического, противоатеросклеротического, противоопухолевого средства [2, 5, 6].

Разработка технологии ускоренного размножения *Rhaponticum carthamoides in vitro*, позволяющая расширить сырьевую базу, является актуальной для решения проблемы сохранения редких и ресурсных видов.

Целью работы являлось изучение морфогенеза и размножение *Rhaponticum carthamoides in vitro*.

В качестве исходного материала были использованы семена. Стерилизацию сред, исходного материала и работу в асептических условиях проводили согласно имеющимся рекомендациям [1, 3]. В работе использовали среду, приготовленную по прописи Т. Murashige и F. Scoog [7] (MS).

На первом этапе работы проводили асептическую обработку растительного материала. Применяемые нами стерилизаторы по-разному влияли на жизнеспособность семян и последующее развитие проростков. Стерилизация семян *Rhaponticum carthamoides* в 3%-ном раство-

ре перекиси водорода и 70%-ном этаноле снижала их жизнеспособность по сравнению с 0,1%-ным раствором диацета и 0,02%-ным раствором нитрата серебра. Максимального числа жизнеспособных (67,8%) и минимального числа инфицированных (2%) семян удалось достичь при использовании комбинации стерилизующих растворов, а именно при последовательном выдерживании семян в 70%-ном этаноле в течение 1 мин. и 0,02%-ном растворе нитрата серебра в течение 20 мин.

Для проращивания семян *in vitro* использовали агаровую безгормональную среду, содержащую минеральные соли по прописи Мурашиге и Скуга (MSO), а также питательную среду MS, дополненную регуляторами роста — БАП или кинетином — в концентрациях по 3,0 мг/л. При добавлении в среду цитокининов гипокотиль утолщался, увеличивалась длина побега, число листьев и их размеры.

Проростки, культивируемые на питательной среде, дополненной регуляторами роста, использовали в дальнейшем для микроразмножения. Проростки трехнедельного возраста делили на верхушечную часть, семядольный узел, гипокотиль и корешок, которые культивировали в течение 30 дней на модифицированной среде, содержащей 0,5 мг/л БАП.

Перспективными для микроразмножения оказались гипокотиль и семядольный узел. Для изучения способности этих эксплантов к побегообразованию были испытаны питательные среды MS, содержащие различные комбинации и концентрации физиологически активных веществ, таких как БАП, кинетин, ИУК, НУК.

Данные таблицы свидетельствуют, что пролиферация побегов на эксплантах гипокотилля и семядольного узла наиболее активно

Таблица 1. Зависимость органогенеза *Rhaponticum carthamoides in vitro* от типа экспланта и концентрации регуляторов роста

Эксплант	Регуляторы роста	Среднее число побегов на эксплант, шт.	Средняя длина побега, мм	Число листьев, шт.
Гипокотиль	БАП 0,1 + ИУК 0,05	4,2	29,1	8,2
	БАП 0,2 + ИУК 0,1	6,1	73,0	25,3
	БАП 0,3 + ИУК 0,1	5,4	53,1	17,4
	БАП 0,5 + ИУК 0,2	7,6	85,5	26,3
	БАП 1,0 + ИУК 0,2	3,0	23,0	11,0
	БАП 3,0 + ИУК 0,2	3,7	18,5	4,0
Семядольный узел	БАП 0,1 + ИУК 0,05	3,7	24,7	7,9
	БАП 0,2 + ИУК 0,1	5,3	40,3	13,7
	БАП 0,3 + ИУК 0,1	4,9	41,0	10,1
	БАП 0,5 + ИУК 0,2	6,9	63,4	24,3
	БАП 1,0 + ИУК 0,2	4,6	19,5	9,9
	БАП 3,0 + ИУК 0,2	2,8	9,7	2,5

происходила на питательных средах в сочетании БАП (0,5 мг/л) + ИУК (0,2 мг/л) и БАП (0,2 мг/л) + ИУК (0,1 мг/л). Коэффициент размножения при использовании в качестве экспланта гипокотыля составлял 1:15, семядольного узла – 1:12. Культивирование данных эксплантов на среде с кинетином стимулировало образование пазушных побегов по всей длине побегов, тогда как БАП вызывал заложение большого числа побегов на экспланте. Одновременно с пролиферацией побегов *Rhaponticum carthamoides* на гипокотиле и семядольном узле на среде, содержащей БАП (0,5 мг/л) + ИУК (0,2 мг/л), происходила элонгация микропобегов.

Результаты по укоренению размноженных побегов *Rhaponticum carthamoides in vitro* свидетельствуют об успешности использования питательных сред, содержащих ИМК + НУК по 0,2 мг/л, ИМК 0,5 мг/л для корнеобразования.

Растения-регенеранты, корни которых достигали длины 10-15 мм, высаживали в почвенный субстрат, состоящий из дерновой земли и песка в соотношении 2 : 1. Приживаемость растений составляла 60-70%.

Проведенное изучение условий культивирования рапонтника сафлоровидного *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Pjin *in vitro* показало возможность эффективного применения метода культуры тканей для его размножения. В качестве эксплантов для размножения в культуре тканей рекомендуется использовать части проростков. Коэффициент размножения побегов на один эксплант за месяц культивирования составлял 12-15. Оптимальными для микроразмножения являются питательные среды, содержащие БАП (0,5 мг/л) + ИУК (0,2 мг/л) и БАП (0,2 мг/л) + ИУК (0,1 мг/л), для укоренения побегов – ИМК + НУК в концентрации по 0,2 мг/л и ИМК – 0,5 мг/л.

Список использованной литературы:

1. Бутенко Р.Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений. М., 1964.
2. Вересковский В.В., Чекалинская И.И., Пашина Г.В. Динамика содержания экдистерона у видов рода *Rhaponticum* // Раст. ресурсы. 1983. Т. 19, вып. 1. С. 60–65.
3. Катаева Н. В., Бутенко Р.Г. Клональное микроразмножение растений. М., 1983.
4. Красная книга СССР. Редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды животных и растений. – Т. 2. – М.: Лесная промышленность, 1984.
5. Куракина И.О., Булаев В.М. Экдистен – тонизирующее средство в таблетках по 0,005 г // Новые лекарственные препараты. М., 1990. Вып. 6. С. 16–18.
6. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование. Семейство *Asteraceae*. СПб., 1993.
7. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // *Physiol. Plant.* 1962. Vol. 15, N 13. P. 473–497.