

**ВЛИЯНИЕ ФИТОРЕГУЛЯТОРОВ РОСТА НА МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ
ORIGANUM VULGARE L. В КУЛЬТУРЕ IN VITRO****Шполтакова Татьяна Александровна**

студент, ФГБОУ ВО Брянский государственный университет имени академика И.Г. Петровского, РФ, г. Брянск

Немцова Елена Валентиновна

научный руководитель, канд. биол. наук, доцент, ФГБОУ ВО Брянский государственный университет имени академика И.Г. Петровского, РФ, г. Брянск

Введение. Проблема сохранения генофонда ценных лекарственных растений в настоящее время приобретает все большую актуальность из-за стремительного сокращения ареалов распространения и исчезновения многих видов. В связи с этим особо важным является поддержание биоразнообразия редких и исчезающих видов растений в естественных ареалах обитания (*in situ*), а также разработка перспективных методов сохранения ценного растительного материала в искусственных условиях (*ex situ*).

Альтернативным решением проблемы сохранения генофонда растений *ex situ* может выступать применение технологии культуры клеток и тканей *in vitro*, которая в течение последних лет интенсивно развивается и широко используется для решения фундаментальных и прикладных задач в биологии. Благодаря очевидным преимуществам работы с растительными объектами *in vitro* в контролируемых условиях вне организма этот метод используется для огромного количества видов, включая лекарственные растения.

Так, при использовании небольшого количества ценного растительного материала и без значительного вмешательства в естественные популяции может обеспечиваться сохранность генетического разнообразия видов на высоком уровне [7, с. 74].

Клональное микроразмножение – современный перспективный метод быстрого клонирования растений, обладающих ценным генетическим потенциалом. Метод позволяет производить большое количество генетически однородного, оздоровленного посадочного материала. Разработка гормонального состава питательных сред и их оптимизация для различных лекарственных культур растений или сортов – важный этап метода клонирования растений.

Цель данной работы – изучение особенностей состава питательной среды на эффективность культивирования душицы обыкновенной (*Origanum vulgare* L.) в культуре тканей *in vitro*.

Материалы и методы исследования. Первым этапом работы по созданию стерильной культуры являлась стерилизация растительных эксплантов с целью удаления внешних источников бактериальной или грибной инфекции. В качестве стерилизующего агента использовали белизну, содержащую активный хлор. Стерилизацию эксплантов, в данном случае семян, проводили в растворе белизны (изготовитель ООО «ПЭТ-ФОРМ») в отношении с водой 1:2, время экспозиции составляло 5 минут. Данный протокол был выбран как наиболее распространенный среди других научных групп по исследованию стерилизации эксплантов [4, 5 с., 5, с. 78, 6, с. 89].

Культивирование стерильных эксплантов (семян) осуществляли на питательной среде по прописи Мурасиге-Скуга (MS) без добавления фиторегуляторов роста [9, с. 473].

Полученные мериклоны черенковались и использовались для культивирования на среде MS с добавлением фиторегуляторов роста цитокининовой природы 6-бензиламинопурина (6-БАП) и кинетина в концентрации 1 мг/л.

Все работы по введению семян в культуру *in vitro* и дальнейшему микрочеренкованию проводились в ламинар-боксе (БАВнп-01-«Ламинар-С.»-1,2; изготовитель ЗАО «Ламинарные системы»). Подсчет морфометрических показателей проводился путем измерения длины выросших мериклонов душицы обыкновенной (длина побега, длина корня), а также подсчетом количества растений в конгломерате (коэффициент размножения).

Результаты и их обсуждение. В ходе исследования было изучено влияния фиторегуляторов роста растений на морфометрические показатели душицы обыкновенной (см. таб.).

Таблица

Влияние условий клонального микроразмножения на параметры роста душицы обыкновенной (*Origanum vulgare* L.) в культуре *in vitro*

Вид питательной среды	Эффективность стерилизации, %	Всхожесть семян, %	Длина корня, Аср, мм	Количество корней, Аср, шт	Длина побега, Аср, мм
Контрольная среда MS (стадия введения в культуру)	100	70	Очень развитая корневая система	Очень развитая корневая система	18
MS + 6-БАП 1 мг/л	-	-	15,6	2	8,0
MS+ кинетин 1 мг/л	-	-	5,8	1	8,3

Согласно данным таблицы можно сделать вывод о том, что выбранный метод стерилизации для душицы обыкновенной являлся эффективным (эффективность составила 100%). Все семена, помещенные в питательную среду Мурасиге-Скуга, не подверглись заращению бактериальной или грибковой инфекциями. В период наблюдения за опытом было установлено, что 70% семян проросло, и семена дали первые побеги. Данный опыт проводился без добавления фиторегуляторов.

В результате нескольких микрочеренкований и переноса мериклонов на питательную среду Мурасиге-Скуга, содержащую цитокинины кинетин и 6-БАП, были получены данные о морфометрических показателях душицы обыкновенной.

Рассматривая такой показатель, как количество побегов (коэффициент размножения), можно сделать вывод о том, что использование 6-БАП в качестве экзогенного фиторегулятора для душицы обыкновенной повышает коэффициент размножения (2 шт./экспл.). При использовании кинетина коэффициент размножения равен 1 шт./экспл., как и на безгормональной среде на стадии введения в культуру.

В ходе исследования было установлено, что показатель длины побегов у мериклонов душицы обыкновенной варьировал незначительно. Наибольшие показатели наблюдались на питательной среде Мурасиге-Скуга с добавлением кинетина в концентрации 1 мг/л и составили в среднем 8,3 мм. Небольшие отличия наблюдались на питательной среде Мурасиге-Скуга с добавлением 6-бензиламинопурина – длина побега составила 8,0 мм.

Неожиданными показателями в ходе опытов с цитокининами являлся процесс корнеобразования. Это свидетельствует о том, что эндогенные ауксины у душицы лекарственной находятся в достаточном количестве, действие которых невозможно ингибировать добавлением экзогенных цитокининов. Наибольшая интенсивность корнеобразования наблюдалась на питательной среде Мурасиге-Скуга без добавления фиторегуляторов. Корневая система растений была сильно развита, и невозможно было произвести более точные измерения. Наименьшая интенсивность корнеобразования

наблюдалась на питательной среде Мурасиге-Скуга с добавлением кинетина (длина корней составила 5,8 мм).

Выводы:

1. Применение раствора белизны (1:2 с водой) с экспозицией 5 минут показало высокую эффективность стерилизации при введении душицы обыкновенной (*Origanum vulgare* L.) в культуру *in vitro* с использованием семян в качестве эксплантов (100%).
2. Наибольший коэффициент размножения душицы обыкновенной наблюдался у мериклонов в питательной среде Мурасиге-Скуга с добавлением 6-БАП в концентрации 1 мг/л (по сравнению с кинетином).
3. Показатель длины побегов у мериклонов душицы обыкновенной варьировал незначительно – на питательной среде Мурасиге-Скуга с добавлением кинетина в концентрации 1 мг/л составил в среднем 8,3 мм, а с добавлением 6-бензиламинопурина – длина побега составила 8,0 мм.

Список литературы:

1. Белошапкина О.О. Биологические и технологические основы оздоровления посадочного материала. – М.: МСХА, 2005.
2. Дитченко Т.И. Культуры растительных клеток. – Минск: БГУ, 2018.
3. Муратова С. А. Биотехнологические аспекты размножения плодовых культур // Сборник научных трудов ГНБС. – 2017. – Том 144. – Часть II. – С. 84-89.
4. Князькина М. С., Денисенко Л. М., Заякин В. В., Айтжанова С. Д., Нам И. Я. Получение сортового посадочного материала земляники садовой методом клонального микроразмножения *in vitro* // Вестник БГУ. – 2011. – №4. – 5-7 с.
5. Мацнева О.В., Ташматова Л.В. Оптимизация сроков введения земляники в культуру *in vitro*/ Современное садоводство. 2018. – №2. – С 78-83.
6. Сковородников Д. Н., Леонова Н. В., Андропова Н. В. Влияние состава питательной среды на эффективность размножения земляники садовой *in vitro* // Вестник ОрелГАУ. – 2013. – №1. – С. 89-92.
7. Филонова М.В., Пулькина С.В., Чурин А.А., Фомина Т.И., Медведева Ю.В. Руководство по изучению цитологических и гистологических характеристик культур клеток и тканей растений: учебное пособие. – Издательский дом Томского государственного университета, 2020. 74 с.
8. Шевелуха В.С. Сельскохозяйственная биотехнология. – М.: Высш. шк., 2008. – 710 С.
9. Murashige R. & Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiologia Plantarum. – 1962. – V.15. – N. 13. – P. 473-497.