

ОПЫТ РАЗМНОЖЕНИЯ *OENOTHERA BIENNIS* L. В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*¹

А. Н. Зарипова, А. Ш. Ахметова, А. А. Мухаметвафина, Л. Н. Миронова

Ботанический сад-институт Уфимского научного центра РАН, Россия

Поступила в редакцию 26 октября 2010 г.

Аннотация: Изучены условия микроклонального размножения *Oenothera biennis* L. *in vitro*. В качестве эксплантов рекомендовано использование первичного побега и гипокотыля. Разработаны оптимальные среды для побегообразования и ризогенеза.

Ключевые слова: энотера, семена, микроклональное размножение, экспланты, первичный побег, гипокотыль.

Abstract: The conditions of microclonal reproduction *Oenothera biennis* L. *in vitro* have been studied. As the explants the authors recommend to use the primary sprout and hypocotyl. Optimum environments for sprout formation and rhizogenes have been developed.

Key words: oenothera, seeds, microclonal reproduction, explants, primary sprout, hypocotyl.

В настоящее время лекарственные растения (в том числе *Oenothera biennis* L.) пользуются большим спросом как в народной, так и в официальной медицине. Вследствие интенсивного и нерегулируемого сбора сырья в больших масштабах запасы их истощаются, поэтому так остро стоит проблема рационального использования и сохранения ресурсных видов лекарственных растений. Возрастающая потребность в сырье не может быть удовлетворена только ресурсами естественной флоры. Одним из путей решения этой проблемы является создание искусственных плантаций на основе эффективных технологий размножения и выращивания лекарственных растений.

Мы провели работу по изучению генетических потенциалов *Oenothera biennis* L. к морфогенезу в условиях *in vitro* и подбор оптимальных условий для их реализации.

В качестве исходного материала были использованы семена *Oenothera biennis* L. Стерилизацию сред исходного материала и работу в асептических условиях проводили согласно имеющимся рекомендациям [1, 2]. В работе использовали среду, приготовленную по прописи Т. Murashige и F. Skoog (MS).

© Зарипова А. Н., Ахметова А. Ш., Мухаметвафина А. А., Миронова Л. Н., 2011

¹ Доклад представлен на Международную конференцию «Интродукция и экология растений, проблемы сохранения биоразнообразия» проходившую 15-20 сентября 2010 г. в Воронежском государственном университете.

На первом этапе работы проводили асептическую обработку растительного материала. Поверхностную стерилизацию осуществляли согласно общепринятым методикам с использованием в качестве стерилизующих агентов ртуть- и серебро-содержащие соединения. Семена сначала стерилизовали в 70 %-м этаноле, а затем в одном из следующих дезинфицирующих растворов: перекись водорода, диацид и нитрат серебра (всего 4 варианта обработки). Использованные нами стерилизующие растворы по-разному влияли на жизнеспособность семян и последующее развитие проростков. Стерилизация семян энотеры в 3 %-м растворе перекиси водорода снижала их жизнеспособность по сравнению с 0,1 %-м раствором диацида и 0,2 %-м раствором нитрата серебра. Максимального числа жизнеспособных (69,8 %) и минимального числа инфицированных (2,0 %) семян удалось достичь при последовательном их выдерживании в 70 %-м этаноле в течение 1 мин и 0,1 %-м растворе диацида в течение 8 мин. Наибольшая инфицированность и низкая жизнеспособность выявлена у семян, стерилизованных в вариантах с использованием H_2O_2 и нитрата серебра.

Проращивание семян *in vitro* и микрочеренкование проростков. Семена проращивали при 25 °С и 16-часовом фотопериоде на безгормональной питательной среде Мурасиге и Скуга (MS) в течение 30-40 дней. В некоторых случаях наблюдалась контаминация

Влияние регуляторов роста на ризогенез побегов энотеры в культуре *in vitro*

Регуляторы роста, мг/л	Укореняемость, %	Число корней, шт.	Средняя длина корней, мм
ИМК 0,5	89,2 ± 10,6	7,2 ± 1,5	30,2 ± 5,1
ИМК 0,2+НУК 0,2	88,1 ± 11,7	6,9 ± 1,3	24,6 ± 3,8
ИУК 0,5	83,3 ± 15,2	2,9 ± 0,5	10,7 ± 1,9
НУК 2,0	68,4 ± 15,9	2,3 ± 0,5	6,7 ± 1,3

грибной и бактериальной инфекцией. Полученные проростки разделяли на семядоли, гипокотиль и первичный побег, далее высаживали на среду MS в трех вариантах: 1) 1,0 мг/л кинетина, 0,5 мг/л нафтилуксусной кислоты (НУК); 2) 2,0 мг/л 6-БАП бензиламинопурина (БАП), 0,5 мг/л НУК; 3) 0,5 мг/л кинетина, 0,2 мг/л индолилуксусной кислоты (ИУК).

В третьем варианте опыта при использовании в качестве экспланта гипокотиль и первичного побега проростка через 25 дней наблюдали активацию меристем и индукцию образования почек *de novo* непосредственно на экспланте. При этом коэффициент размножения побегов через 8 недель культивирования эксплантов составил 3-4. При использовании семядолей образования каллуса или пролиферации побегов не наблюдалось ни в одном из вариантов опыта, однако во втором и третьем вариантах семядоли оставались жизнеспособными более месяца. В первом варианте опыта все экспланты погибли. Таким образом, в качестве исходного материала для получения конгломерата побегов, целесообразно использовать первичный побег и гипокотиль.

Укоренение побегов. Для стимуляции процесса формирования корней из питательной среды исключили цитокинины. Побеги укореняли на среде MS, дополненной различными ауксинами (всего 4 варианта): 1) ИМК 0,5 мг/л; 2) ИМК + НУК по 0,2 мг/л; 3) ИУК 0,5 мг/л; 4) НУК 2,0 мг/л (таблица).

Результаты по ризогенезу побегов, представленные в таблице, свидетельствуют, что наиболее

эффективной оказалась среда с добавлением ИМК 0,5 мг/л и ИМК + НУК по 0,2 мг/л, обеспечивающая высокую укореняемость (89,2 и 88,1 %) и наиболее интенсивное образование корневой системы.

Растения-регенеранты со сформированной корневой системой пересаживали в почвенный субстрат, состоящий из дерновой почвы и песка в соотношении 3:1 и помещали в климатическую камеру с высокой относительной влажностью воздуха (85-90 %) для их акклиматизации. При этом приживаемость растений составила 60-70 %.

Через 2 месяца регенеранты энотеры были высажены на экспериментальный участок в открытый грунт.

Таким образом, проведенное исследование условий культивирования *Oenothera biennis* L. *in vitro* показало возможность эффективного применения метода культуры тканей для ее размножения. В качестве эксплантов рекомендуется использовать первичный побег и гипокотиль. В этом случае коэффициент размножения побегов на один эксплант за 8 недель культивирования составлял 3-4. Оптимальными для микроразмножения побегов являются питательные среды MS, содержащие кинетин (0,5 мг/л) + ИУК (0,2 мг/л), для укоренения побегов – ИМК (0,5 мг/л) и ИМК + НУК (по 0,2 мг/л).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бутенко Р. Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений / Р. Г. Бутенко. – М. : Наука, 1964. – 270 с.
2. Катаева Н. В. Клональное микроразмножение растений / Н. В. Катаева, Р. Г. Бутенко. – М. : Наука, 1983. – 96 с.

Зарипова Альфия Нуровна
кандидат биологических наук, заведующая лабораторией биотехнологии Ботанического сада-института Уфимского научного центра РАН, г. Уфа, т. (347)228-13-55, E-mail: flowers-ufa@yandex.ru

Zaripova Al'fiya Nurovna
Candidate of Biology, Head of the Laboratory of Biotechnology of the Botanical Garden-Institute of the Ufa Scientific Center of the RAS, Ufa, tel. (347)228-13-55, E-mail: flowers-ufa@yandex.ru

Ахметова Альбина Шамсуновна
кандидат биологических наук, научный сотрудник Ботанического сада-института Уфимского научного центра РАН, г. Уфа, т. (347)228-13-55,
E-mail: flowers-ufa@yandex.ru

Мухаметвафина Аниса Анасовна
кандидат биологических наук, научный сотрудник Ботанического сада-института Уфимского научного центра РАН, г. Уфа, т. (347)228-13-55,
E-mail: flowers-ufa@yandex.ru

Миронова Людмила Николаевна
кандидат сельскохозяйственных наук, заведующая лабораторией интродукции и селекции цветочных растений ботанического сада-института Уфимского научного центра РАН, г. Уфа, т. 8(347)228-13-55,
E-mail: flowers-ufa@yandex

Akhmetova Al'bina Shamsunovna
Candidate of Biology, Researcher of the Botanical Garden-Institute of the Ufa Scientific Center of the RAS, Ufa, tel. (347)228-13-55, E-mail: flowers-ufa@yandex.ru

Mukhametvafina Anisa Anasovna
Candidate of Biology, Researcher of the Botanical Garden-Institute of the Ufa Scientific Center of the RAS, Ufa, tel. (347)228-13-55, E-mail: flowers-ufa@yandex.ru

Mironova Lyudmila Nikolayevna
Candidate of Agricultural Sciences, Head of the laboratory of introduction and selection of flowering plants of the Botanical Garden-Institute of the Ufa Scientific Center of the RAS, Ufa, tel. 8 (347) 228-13-55,
E-mail: flowers-ufa@yandex