

ТЕХНОЛОГИЯ ВЫРАЩИВАНИЯ ЛАПЧАТКИ КУСТАРНИКОВОЙ *PENTAPHYLLOIDES FRUTICOSA* L. В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*, СОПРЯЖЕННОЙ С ГИДРОПОНИКОЙ

Казиева Амина Юрьевна – студентка 4 курса института естественных и технических наук БУ ВО «Сургутский государственный университет».

Научный руководитель – Макарова Татьяна Анатольевна, к.б.н., доцент кафедры биологии и биотехнологии БУ ВО «Сургутский государственный университет».

Аннотация: в работе представлены данные по выращиванию лапчатки кустарниковой (*Pentaphylloides fruticosa* (L.)) методом микроклонального размножения с использованием приемов беспочвенного выращивания на этапе адаптации регенерантов к условиям *in vivo*. Установлено влияние гормонов и стимуляторов роста на органогенез лапчатки кустарниковой в культуре *in vitro*, дана оценка продуктивности лекарственного растительного сырья, полученного гидропонным методом.

Ключевые слова: *Pentaphylloides fruticosa* (L.), курильский чай, микроклональное размножение, лекарственное сырье, лапчатка кустарниковая, гидропоника.

В настоящее время остро стоит вопрос получения экологически чистого растительного лекарственного сырья. В результате антропогенного давления на биосферу и случаев нерегламентированной заготовки растительного сырья, численность ценных лекарственных растений в природных популяциях резко сокращается.

Для северных районов России ценным и перспективным лекарственным растением является лапчатка кустарниковая (*Pentaphylloides fruticosa* (L.) O. Schwarz), или курильский чай. Растение на протяжении многих веков известно в народной медицине, но несмотря на это химический состав его недостаточно изучен, в связи с чем растение не является фармакопейным сырьем. По мнению ряда авторов [5. С. 4; 7. С. 112-118; 6. С. 1-2], курильский чай является принципиально новым источником важных биологически активных веществ (дубильных веществ, аскорбиновой кислоты, флавоноидов и др.), благодаря чему интерес к нему с научной точки зрения постоянно растет. Растение используется в первую очередь при воспалительных заболеваниях желудочно-кишечного тракта и для профилактики работы сердечно-сосудистой системы, а также обладает противовоспалительными свойствами.

тельными, антиаллергическими, гипогликемическими и рядом других свойств, многие из которых доказаны экспериментально.

Благодаря обильному и продолжительному цветению (с мая по сентябрь), курильский чай востребован в декоративном цветоводстве и садово-парковом строительстве. Кроме того, за счет развития мощной корневой системы и невысоких требований к почвенным условиям, растение может применяться для препятствия развития эрозии почвы [4. С. 3-4].

Заготовка ценного лекарственного сырья ограничивается тем, что лапчатка кустарниковая включена в Красную книгу Ханты-Мансийского автономного округа – Югры (3-я категория: редкий вид), Красную книгу Республики Коми (2019), Красную книгу Республики Башкортостан (2011) и Тюменской области (2013). За последние десятилетия популяции лапчатки кустарниковой резко сократились. Причинами этого являются активное развитие промышленности и хозяйственное освоение региона, низкая видовая пластичность и конкурентная способность, несмотря на высокий адаптивный потенциал [4. С. 2].

В связи с этим вопросы рационального использования, сохранения и ускоренного размножения лекарственных видов растений, нуждающихся в охране и восстановлении численности, становятся актуальными.

Учитывая значимость решаемых вопросов для территории Ханты-Мансийского автономного округа – Югры целью нашей работы стало – разработка технологии выращивания лапчатки кустарниковой в условиях *in vitro*, сопряженной с гидропоникой.

В задачи наших исследований входило:

1. Разработка технологии выращивания материнских растений *Pentaptychoides fruticosa* гидропонным методом.
2. Оценка продуктивности и урожайности культуры при выращивании в гидропонной системе.
3. Введение в культуру и мультипликация микроклонов лапчатки кустарниковой методом микроклонального размножения.
4. Укоренение и адаптация растений-регенерантов в условиях гидропонники.

Для выращивания материнских растений лапчатки кустарниковой использовалась гидропонная установка «Система – 4Д» горизонтального типа в режиме периодического затопления.

Для гидропонной системы применяли полностью растворимое в воде удобрение Ferticare hydro и Yara liva calcinit, Нитрат кальция (Кальциевая селитра). Поддерживали оптимальные условия культивирования: рН питательного раствора 5,8-6,0, температуру раствора – +20 °С. Подача питательного раствора проводилась 15 минут 5 раз в сутки, замена питательного раствора – через 7 дней [1. С. 2-3].

При выращивании растений *P. fruticosa* использовали разные субстраты: минераловатный, торфяной, льняной. Предварительно кубики ми-

неральной ваты замачивали в питательном растворе, торфяные таблетки – в теплой воде. Торфяной и льняной субстраты обрабатывали 0,5 % водным раствором перманганата калия [2. С. 2-3].

Перед посевом на субстраты семена стерилизовали 0,5 % водным раствором перманганата калия в экспозиции 10 минут.

Проращивание проводили в семенном отделении при следующих условиях: температуре воздуха +22...+24 °С, относительной влажности воздуха 70...85 %, в темноте. По мере прорастания растения переносили в основное культивационное помещение на стеллажи гидропонной установки. Температура и относительная влажность воздуха на протяжении всего периода выращивания культуры не изменялись (+23 °С и 60...70 % соответственно), фотопериод – 16 ч/сут., освещение осуществлялось в двух вариантах:

1. Комбинированные лампы: 2 красные лампы, 1 синяя, 2 белые – светодиодное освещение красными, синими и белыми диодами (32:16:32), световой поток 6573 лм, PPF 143 мкмоль/с/м², доминанта по синим лампам 470нм, доминанта по красным лампам 625нм.

2. Белое освещение: 4 лампы с белыми диодами вариант – светодиодное освещение белыми диодами, световой поток 8000 лм, цветовая температура 4000 К, PPF 165 мкмоль/с/м².

Микроклональное размножение лапчатки кустарниковой (*P. fruticosa*) проводили по общепринятым методикам [3. С. 99-105].

Эксплантами лапчатки кустарниковой служили метамеры зеленого побега длиной до 5 см, с 1-2 пазушными или апикальной почкой. Для стерилизации растительного материала использовали 0,1 % раствор сулемы, экостерилизатор бесхлорный (разведение 1:1), 0,1 % раствор азотнокислого серебра, 0,4 % растворы гипохлорита кальция и гипохлорита натрия. На первом этапе растения выращивали на питательной среде Мурасиге-Скуга (MS) (Murashige, Skoog, 1962) с добавлением 0,5 мл/л 6-БАП.

На втором этапе микроклонального размножения культивирование проводили на питательной среде MS, дополненной 0,5 мл/л 6-БАП и эпином в концентрациях 0,1 мл/л и 0,5 мл/л. Контролем служила питательная среда MS без эпина.

На третьем этапе культивирования растений в питательную среду MS вносили ИМК (0,5 мл/л) и 6-БАП в концентрации 0,5 мл/л и 1,0 мл/л.

При адаптации растений-регенерантов к условиям *in vivo* мы вынимали их из пробирок с помощью пинцета, хорошо развитую корневую систему промывали 0,5% раствором перманганата калия и помещали в горшочки с стерильным керамзитом. Для защиты растений от пересыхания горшочки накрывали прозрачными колпачками. Растения переносили на гидропонную установку и культивировали при температуре воздуха – +20...+23 °С, влажности воздуха – 60...70 %, под белыми лампами (световой поток 8000 лм), фотопериоде – 16 ч/сут.

При выращивании материнских растений методом гидропоники отмечено, что период прорастания семян лапчатки кустарниковой сильно растянут и длится в среднем от пяти до двадцати дней. Рост и развитие растений в основном культивационном помещении во многом зависит от типа субстрата и освещения (рис. 1).

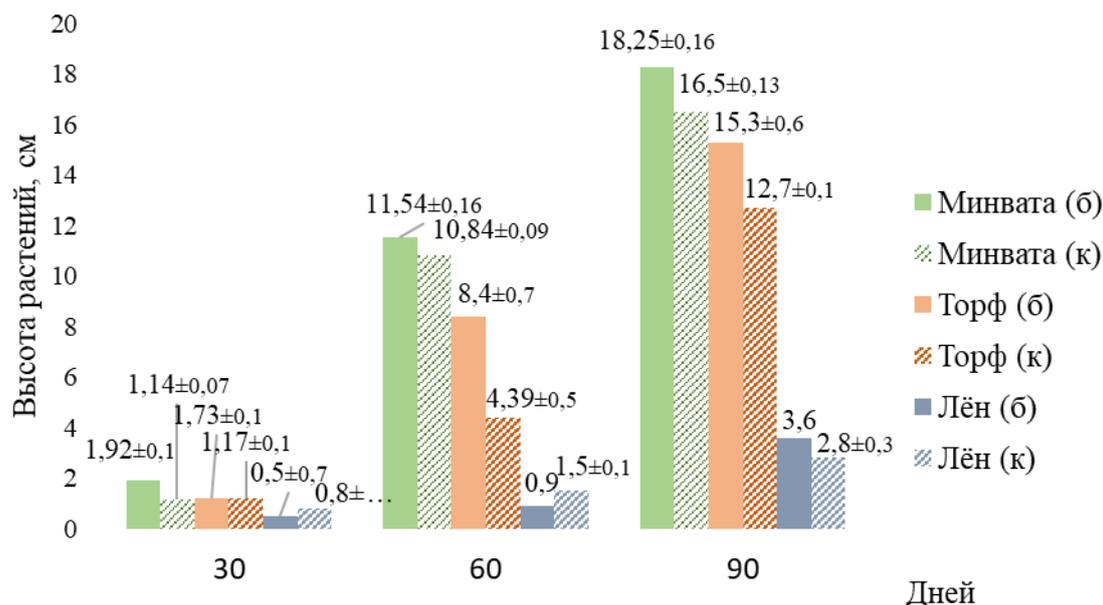


Рис. 1. Динамика роста *P. fruticosa* в зависимости от условий освещения и типа субстрата (б – освещение белыми лампами; к – освещение комбинированными лампами)

Наиболее активный рост растений в условиях гидропоники наблюдается на минераловатном субстрате. Через 30 дней выращивания высота растений под белыми лампами составляет 1,92 см, через 60 дней – 11,54 см, под комбинированными – 1,14 и 8,4 см соответственно. На торфяном субстрате показатели роста значительно ниже, чем на минераловатном. Льняной субстрат оказался наименее подходящим для выращивания лапчатки кустарниковой. Высота растений через 90 дней достигает лишь 3,6 см и 2,8 см под белыми и комбинированными лампами соответственно.

Формирование продуктивной биомассы лапчатки кустарниковой при выращивании на минераловатном субстрате под белыми фитолампами в системе периодического затопления наступает через 70 дней после посева семян (период первой срезки). Отмечено, что с каждой последующей срезкой (через 100 и 130 дней выращивания), вне зависимости от типа освещения, урожайность растений увеличивается (статистически достоверно) как под белыми лампами: первая срезка – 0,58 кг/м², вторая – 1,33 кг/м², третья – 1,12 кг/м²; так и комбинированными: первая срезка – 0,45 кг/м², вторая – 0,861 кг/м², третья – 1,107 кг/м². Тогда как в открытом грунте урожайность *P. fruticosa* значительно ниже и составляет 0,66 кг/м² [4. С. 6].

Выращенные в гидропонной системе растения в дальнейшем использовались для микроклонального размножения.

Установлено, что при введении в культуру *in vitro* для метамеров *P. fruticosa* наиболее эффективными стерилизующими агентами являются 0,1% водный раствор сулемы в экспозиции 1 минута (80 %) и 0,1 % водный раствор азотнокислого серебра в экспозиции 2 минуты (70 %). Эффективность экостерилизатора в разведении 1:1 в экспозиции 5 минут и 0,4% водного раствора гипохлорита натрия в экспозиции 13 минут составила 12 и 25 % соответственно.

На этапе «собственно микроразмножение» добавление в питательную среду Мурасиге-Скуга 0,5 мл/л 6-БАП и эпина в разных концентрациях оказало положительное влияние на рост побегов (табл. 1).

Таблица 1

Влияние различных концентраций эпина на рост побегов *P. Fruticose*

Питательная среда	Биометрический показатель	Без эпина	Эпин 0,1 мл/л	Эпин 0,5 мл/л
MS + 6-БАП (0,5 мл/л)	Количество побегов, шт	2±0,3	5±1,3	7±0,4
	Длина побегов, см	0,7±0,1	2±0,3	5±0,12

Отмечено, что активное побегообразование *P. fruticosa* наблюдается в варианте с 6-БАП (0,5 мл/л) и эпином (0,5 мл/л), где количество побегов в среднем составляет 7 шт., что существенно выше контрольных показателей. Длина побегов также зависит от содержания эпина в питательной среде: при концентрации эпина 0,1 мл/л длина побегов составляет 2 см, при 0,5 мл/л – 5 см.

На третьем этапе микрклонального размножения применение ауксина ИМК и цитокинина 6-БАП оказало положительное влияние как на длину, так и количество побегов растений-регенерантов (табл. 2).

Таблица 2

Влияние состава питательной среды MS на органогенез лапчатки

Питательная среда	Среднее число побегов, шт	Средняя длина побегов, см	Средняя длина коней, см
MS + 6-БАП (0,5 мл/л) + ИМК (0,5 мл/л) – контроль	4±1,2	0,8±1,2	0,7±1,2
MS + 6-БАП (1,0 мл/л) + ИМК (0,5 мл/л)	5±1,5	2,5±3,2	3,8±2,3

Установлено, что при увеличении концентрации 6-БАП длина побегов увеличивается в три раза: с 0,8 см в контроле до 2,5 см в питательной среде, дополненной 6-БАП (1,0 мл/л) и ИМК (0,5 мл/л). Также при увели-

чении концентрации 6-БАП с 0,5 мл/л (контроль) до 1,0 мл/л увеличилась и длина корней с 0,7 см до 3,8 см соответственно.

При адаптации пробирочных растений к условиям *ex vitro*, высаженные в керамзит растения поливали $\frac{1}{4}$ маточным раствором питательной среды Мурасиге-Скуга. Приживаемость растений составила 40 %. Адаптированные к условиям *in vivo* растения перемещали на стеллажи гидропонной установки и культивировали при комнатной температуре, влажности воздуха 60...70 %, освещении белыми лампами, световой поток которых 8000 лм до высадки в открытый грунт.

В заключении следует отметить, что для ускоренного размножения лапчатки кустарниковой целесообразно использовать метод гидропонного выращивания и технологии *in vitro*.

При культивировании культуры в гидропонных установках особое внимание необходимо уделять типу субстрата и освещению. Соблюдать оптимальные условия выращивания *P. fruticosa* в закрытых системах: минераловатный субстрат и освещение белыми фитолампами. При таких условиях прегенеративные возрастные состояния у растений протекают быстрее, что приводит к раннему и продолжительному цветению.

На первом этапе микроклонального размножения при введении растений в культуру *in vitro* рекомендуется использовать 0,1 % водный раствор сулемы в экспозиции 1 минута и 0,1 % водный раствор азотнокислого серебра в экспозиции 2 минуты, позволяющие получить высокую степени стерильных и жизнеспособных эксплантов.

На втором этапе микроклонального размножения для мультипликации микроклонов целесообразно использовать 0,5 мл/л 6-БАП и 0,5 мл/л эпина, ускоряющие процессы побегообразования, способствующие увеличению коэффициента размножения.

На третьем этапе микроклонального размножения комплексное действие ауксина ИМК (0,5 мл/л), цитокинина 6-БАП (1,0 мл/л) усиливает ризогенез лапчатки в 2 раза по сравнению с контролем.

Адаптацию растений-регенерантов к условиям *ex vitro* целесообразно проводить методом гидропоники. Условия выращивания в закрытых системах позволяют регулировать микроклимат и оптимизировать минеральное питание растений, что способствует выходу максимального количества жизнеспособных растений с хорошо развитой корневой системой, готовых к высадке в открытый грунт.

Библиографический список:

1. Макаров П.Н. Оценка продуктивности и качества эстрагона и тимьяна обыкновенного при выращивании в светокультуре / П.Н. Макаров, Т.А. Макарова, З.А. Самойленко, Н.М. Гулакова, И.В. Кравченко // Вест-

ник Казанского государственного аграрного университета. 2021. № 4 (64). С. 24-29.

2. Казиева А.Ю. Выращивание лапчатки кустарниковой методом гидропоники / А.Ю. Казиева, Т.А. Макарова, З.А. Самойленко, Н.М. Гулакова // Безопасный Север – чистая Арктика: материалы IV Всерос. науч.-практ. конф. – Сургут: СурГУ, 2022. – С. 28-31.

3. Калашникова Е.А. Основы биотехнологии: учебное пособие / Е.А. Калашникова, М.Ю. Чередниченко. – Москва: Изд-во РГАУ-МСХА. – 2016. – 185 с.

4. Корзун Б.В. Морфобиологические особенности и способы размножения лапчатки кустарниковой (курильского чая) *Potentilla* L. в предгорной зоне республики Адыгея / Б.В. Корзун // Новые технологии. – 2015. – №3.

5. Портнягина Н.В. Опыт культивирования лекарственных растений на севере (Республика Коми) / Н.В. Портнягина, О.В. Скромная, К.С. Зайнуллина и др. // Известия Самарского научного центра РАН. – 2016. – №2 (18). – С. 172-176.

6. Стальная М.И. Перспективы использования функциональных продуктов из курильского чая кустарникового / М. И. Стальная // Инновационная наука. – 2015. – №1-2. – С. 102-103.

7. Храмова Е.П. Род *Pentaphylloides* Hill (*Rosaceae*) Азиатской России (фенольные соединения, элементный состав в природе и культуре, хемотаксономия): дис. ... док. биол. наук. / Е.П. Храмова. – Новосибирск, 2016. – 437 с.

TECHNOLOGY OF CULTIVATION OF SHRUBBY CINQUEFOIL *PENTAPHYLLOIDES FRUTICOSA* L. UNDER *IN VITRO* CONDITIONS, COUPLED WITH HYDROPONICS

Amina Yurievna Kazieva is a 4th year student of the Institute of Natural and Technical Sciences, Faculty of Natural and Technical Sciences, Surgut State University. Russian Federation.

Scientific supervisor – **Makarova Tatiana Anatolievna**, Phd. in Biology, Associate Professor of Biology and Biotechnology, Surgut State University. Russian Federation.

Abstract: the paper presents the data on cultivation of shrubby cinquefoil (*Pentaphylloides fruticosa* (L)) by microclonal propagation using rootless cultivation techniques at the stage of regenerants adaptation to *in vivo* conditions. The effect of hormones and growth stimulants on organogenesis of bush lichen in culture *in vitro* was established, the productivity of medicinal plant material obtained by hydroponic method was evaluated.

Keywords: *Pentaphylloides fruticosa* (L.), Kuril tea, microclonal propagation, medicinal raw material, shrubby cinquefoil, hydroponics.