

УДК 635.71

DOI 10.26897/978-5-9675-1762-4-2020-36

РАЗМНОЖЕНИЕ *AMOMUM AROMATICUM* Roxb. В УСЛОВИЯХ *INVITRO*

Калашникова Елена Анатольевна, д.б.н., профессор, заведующая кафедрой биотехнологии, ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева»

E-mail: kalash0407@mail.ru

Кхуат Ван Куэт, аспирант кафедры биотехнологии ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева»

E-mail: khuatquyetst@gmail.com

Нгуен Тхань Хай, к.б.н., преподаватель кафедры биотехнологии растений, Вьетнамский национальный аграрный университет, Биотехнологический факультет, г. Ханой, Вьетнам

E-mail: nthaicnsh@vnia.edu.vn

Киракосян Рима Нориковна, к.б.н., доцент кафедры биотехнологии ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева»

E-mail: mia41291@mail.ru

Аннотация:

Приводятся результаты исследований по оптимизации этапов клонального микро размножения *Amomum aromaticum* Roxb. Установлено, что на этапе микро размножения необходимо добавлять в состав питательной среды Мурасига и Скуга цитокинины (кинетин или БАП) в концентрации 1 мг/л. В этих условиях наблюдается быстрый рост микро побегов и формирование 3-4 адвентивных побегов. На этапе укоренения необходимо применять ИМК в концентрации 0,5 мг/л.

Ключевые слова: клональное микро размножение, лекарственные растения, кардамон, *in vitro*

Пряно-ароматические растения в последнее время все чаще стали привлекать внимание исследователей. Это связано, прежде всего с тем, что в этих растениях синтезируются и накапливаются полезные для человека вещества вторичного метаболизма, которые повышают иммунитет, помогают бороться с определенными заболеваниями, а также оказывают благотворное влияние на внешний вид человека. Однако в последнее время наметилась тенденция сокращения ареалов произрастания ценных лекарственных, пряных и других растений, из-за неконтролируемого их сбора и заготовки. Поэтому необходимо проводить исследования по сохранению исчезающих видов растений и поиска альтернативных способов их размножения [2].

Клональное микроразмножение – это быстрый и экономически выгодный способ размножения растений в условиях *invitro*, при котором достигается получение необходимого количества генетически однородного посадочного материала за короткий промежуток времени. Такие технологии позволяют создавать *invitro* банк ценных, лекарственных, исчезающих, а также занесенных в Красную книгу растений [1].

Atomumaromaticum Roxb. (черный кардамон) – растение, входящее в семейство Zingiberaceae Lindl., род *Atomum*. На территории Вьетнама произрастает 21 вид этого рода. *A. aromaticum* Roxb. в настоящее время произрастает не только во Вьетнаме, но и в Индии, Китае, Бангладеш, Непале, Мьянме, Лаосе и Камбодже.

Во Вьетнаме *A. aromaticum* Roxb. широко известен как "кардамон", "Са нхан КОК" или "До Хо". Это многолетнее однодольное травянистое растение, которое является важным лекарственным растением и составляет во Вьетнаме ценную недревесную продукцию, которая отличается высоким экспортным потенциалом. В традиционной медицине семена *A. aromaticum* используют в качестве лекарств при борьбе с диареей, малярией, кариеса зубов, различными кишечными заболеваниями и др. [4,5,8]. Согласно Parihar et al. (2012) [7], экстракты, полученные из семян, листьев и стеблей *A. aromaticum* обладают антибактериальной активностью по отношению к *Klebsiella pneumoniae*, вызывающей респираторную суперинфекцию, также экстракты усиливают иммунный ответ, увеличивая количество фагоцитоза и лимфоцитов у мышей. По данным Le et al. (2017) [6], эфирное масло *A. aromaticum* обладает противоопухолевой активностью. Кроме того, различные части растения, особенно семена, широко используются в качестве приправы для многих блюд. Поэтому и масштабное размножение и сохранение *A. aromaticum* имеет важное значение.

Основные способы размножения черного кардамона являются – семенной и вегетативный (корневыми отпрысками). Однако эти методы имеют свои недостатки, например, генетическая неоднородность материала при семенном способе размножения, или появление грибковых или вирусных заболеваний – при вегетативном способе. Все это свидетельствует о поиске альтернативных способов размножения, важной сельскохозяйственной культуры для Вьетнама.

Объектом исследования служили спящие почки, изолированные с корней 6-8 летних растений *A. aromaticum*. Экспланты, перед введением в культуру *invitro*, промывали мыльным раствором под проточной водой в течение 15-20 минут, после чего в условиях ламинар-бокса проводили стерилизацию. В качестве стерилизующего агента использовали гипохлорит кальция (8-10%) или хлорид ртути (0,1%), в котором выдерживали изолированные корневые почки в течение 5-12 минут, после чего их промывали трижды стерильной дистиллированной водой. Стерильные экспланты культивировали на модифицированной питательной среде Мурасига и Скуга, содержащей БАП или кинетин в концентрации 0,5-2 мг/л. Все работы проводили в соответствии с методическими рекомендациями,

разработанными на кафедре биотехнологии РГАУ-МСХА имени К.А.Тимирязева [3].

В результате проведенных исследований было установлено, что присутствие в составе питательной среды цитокининов оказывает существенное влияние на такие важные показатели, как коэффициент размножения и формирование главного и дополнительных побегов. Так, на среде с кинетином коэффициент размножения составил от 2 до 3, в то время как на среде с БАП этот показатель был на уровне от 2 до 4. Причем в этих условиях выращивая сформировавшиеся адвентивные почки характеризовались активным ростом и к концу пассажа их высота в среднем составляла 3,2 - 6,4 см, что в 2 раза выше по сравнению с вариантом, в котором присутствовал кинетин. Анализируя полученные данные следует заключить, что наилучшие результаты были получены на питательных средах, в которых гормоны (БАП или кинетин) находились в концентрации 1 мг/л (Рисунок 1, 2).



А В С D E
Рисунок 1 - Влияние кинетина на морфогенетический потенциал: А – контроль, В – 0,5 мг/л, С – 1,0 мг/л, D – 1,5 мг/л, E – 2,0 мг/л



А В С D E
Рисунок 2 – Влияние БАП на морфогенетический потенциал: А – контроль, В – 0,5 мг/л, С – 1,0 мг/л, D – 1,5 мг/л, E – 2,0 мг/л

Сформировавшиеся микропобеги в дальнейшем отделяли от материнского экспланта и переносили на питательные среды для укоренения. В качестве ауксинов применяли НУК или ИМК в концентрации 0,25-1 мг/л. Экспериментально установлено, что во всех условиях выращивания наблюдали 100%-ное укоренение микропобегов. Причем на среде с ИМК формировались корни в 1,5-2 раза длиннее по сравнению с вариантом с НУК (Рисунок 3).

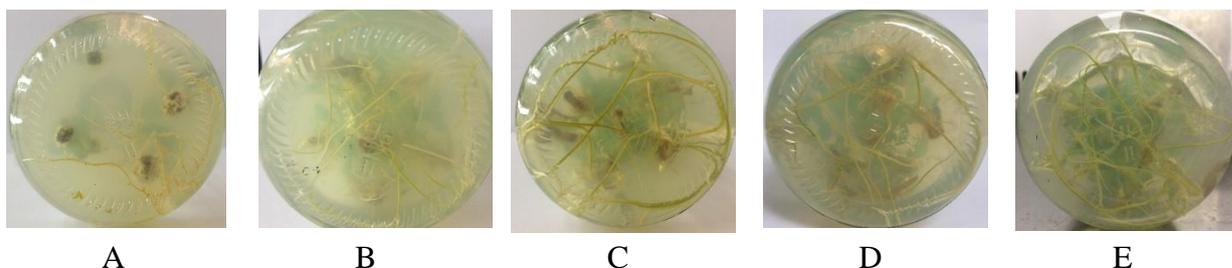


Рисунок 3 – Влияние ИМК на формирование корней: А – контроль, В – 0,5 мг/л, С – 1,0 мг/л, D – 1,5 мг/л, E – 2,0 мг/л

Таким образом, на основании проведенных исследований подобраны наиболее благоприятные условия культивирования *A. aromaticum* на всех этапах клонального микроразмножения.

Библиографический список

1. Калашникова, Е.А. Клеточная инженерия растений. Учебник и практикум / Москва, 2020. Сер. 76 Высшее образование. (2-е изд.). -378 с.
2. Калашникова Е.А., Киракосян Р.Н. Современные аспекты биотехнологии. Москва.-2016.- 145 с.
3. Калашникова Е.А., Чередниченко М.Ю., Киракосян Р.Н., Зайцева С.М. Лабораторный практикум по культуре клеток и тканей растений. Москва, 2017. -163 с.
4. Do Tat Loi Vietnamese medicinal plants and herbs. // Medical Publishing House, Ha Noi. -2005. p. 404.
5. Jafri M.A., Farah K.J., Singh S. Evaluation of the gastric antiulcerogenic effect of large cardamom (fruits of *Amomum subulatum* Roxb.). // Journal of Ethnopharmacology. -2001. 5 (2-3): 89-94.
6. Le T.B., Beaufay C., Nghiem D.T., Mingeot-Leclercq M.P., Quetin-Leclercq J. *In vitro* Anti-Leishmanial Activity of Essential Oils Extracted from Vietnamese Plants. // Molecules. 2017. 22(7): 1071.
7. Parihar L., Sharma L., Kapoor P., Parihar P. Detection of antioxidant, immunomodulatory and antimicrobial activity of *Amomum aromaticum* against *Klebsiella pneumoniae*. // Journal of Pharmacy Research. 2012. 5(2): 901-905.
8. Verma S.K, Rajeevan V., Bordia A., Jain V. Greater cardamom (*Amomum subulatum* Roxb.) - A cardio-adaptogen against physical stress. // Journal of Herbal Medicine and Toxicology. 2010. 4(2): 55-58.

The multiplication of Amomum aromaticum Roxb. in vitro

Kalashnikova E. A., D.Sc. in Biology

Khuat V.Q., Postgraduate student

*Russian State Agrarian University - Moscow Timiryazev Agricultural Academy
127550, Russia, Moscow, Timiryazevskaya str., 49*

Nguyen Th.H., PhD in Biology

Vietnam National University of Agriculture

Vietnam, Hanoi, Gia Lam, Trau Quy

Kirakosyan R.N., PhD in Biology

Russian State Agrarian University - Moscow Timiryazev Agricultural Academy

127550, Russia, Moscow, Timiryazevskaya str., 49

Abstract: The results of research on optimization of the stages of clonal micropropagation of *Amomum aromaticum* Roxb are presented. It was found that at the stage of micro-propagation, it is necessary to add cytokinins (kinetin or BAP) at a concentration of 1 mg/l to the culture medium of Murashiga and Skuga. Under these conditions, there is a rapid growth of micro-shoots and the formation of 3-4 adventitious shoots. At the rooting stage, it is necessary to apply a BMI at a concentration of 0.5 mg/l.

Keywords: clonal micropropagation, medicinal plants, cardamom, *in vitro*