

УДК 60:57.085:582.929.4

**ВЛИЯНИЕ СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД НА РОСТ
DRACOSERPHALUM MOLDAVICA L В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO***

Сосина Анастасия Владимировна, аспирант кафедры генетики, биотехнологии, селекции и семеноводства, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, *sosina_2012@mail.ru*

Научный руководитель: Чередниченко Михаил Юрьевич, доцент кафедры генетики, биотехнологии, селекции и семеноводства, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, *michael.isch@gmail.com*

Аннотация: Проверено влияние состава 8 вариантов питательных сред на рост *Dracoserphalum moldavica* в культуре *in vitro*. Для получения растений змееголовника молдавского сортов Горыныч и Лимонный аромат в условиях *in vitro* без заметных морфологических отклонений следует проводить их культивирование на среде №5.

Ключевые слова: *Dracoserphalum moldavica*, питательная среда, динамика роста, *in vitro*

Dracoserphalum moldavica L. (змееголовник молдавский) - самый распространенный представитель из 74 видов лекарственных растений рода *Dracoserphalum* L. семейства Lamiaceae Mart. (Яснотковые). Он обладает успокаивающим, болеутоляющим, противовоспалительным, укрепляющим, антисептическим и рядом других действий. Из-за своего лимонного аромата применяется в парфюмерии, в отдушке мыла и моющих средств, в пищевой промышленности. Как декоративное растение актуален из-за цвета и формы венчика цветка (напоминает голову змеи или дракона) и внешнего вида растения в целом. Также является хорошим медоносом и используется в пчеловодстве [3]. Такой большой спектр применения обусловлен

содержащимися в змееголовнике вторичными метаболитами (ВМ). В наземной части обнаружены флавоноиды, фенолкарбоновые кислоты, терпеновые соединения, лигнаны, карбоновые кислоты, дубильные вещества, кумарины, алкалоиды, сапонины, спирты, алифатические углеводороды и др. Ряд перечисленных компонентов входит в состав эфирного масла, которое в наземных органах может накапливаться в количестве от 0,15 до 1,9 % [2]. Относительное содержание и компонентный состав эфирного масла сильно зависят от сорта, условий произрастания, сроков сбора и др. В культуре *in vitro* контролируют и поддерживают параметры культивирования, что позволяет снизить варьирование состава ВМ в растении. Для получения веществ, на основе которых готовят лекарственные препараты, используют суспензионную культуру растительных клеток, поддерживаемую в биореакторах. Чаще всего суспензии клеток получают из каллуса, перенося его с агаризованной питательной среды в жидкую. Качество суспензии зависит от характеристик каллусной культуры, получаемой из микрорастений [1, 4]. Следовательно, особую ценность приобретает подбор оптимальных условий культивирования растений в условиях *in vitro*.

Имеющиеся немногочисленные работы по культивированию и размножению змееголовника молдавского *in vitro* содержат статистически неподтвержденные данные. К примеру, о влиянии стерилизующего агента на прорастание семян при введении в культуру судят по частным величинам вариантов [5]. Соответственно, необходимо разрабатывать системы культивирования змееголовника в асептических условиях.

Рост и развитие растений в клеточной биотехнологии во многом зависят от компонентов питательной среды. Целью данной работы было определение влияния минеральной основы различных питательных сред на рост растений двух сортов *Dracocephalum moldavica* L. (Горыныч и Лимонный аромат) в культуре *in vitro*.

Семена змееголовника молдавского для введения в асептические условия подвергали обработке 5 %-ным раствором гипохлорита натрия в течение 10 мин. с последующей трехкратной промывкой в стерильной дистиллированной воде и помещали на питательную среду MS. Асептические проростки в возрасте 10-15 суток пересаживали на разные питательные среды: Murashige and Skoog (MS), Gamborg (B5), Quoirin and Lepoivre (QL), Woody Plant Medium (WPM) с полным и половинным содержанием ($1/2$ MS, $1/2$ B5, $1/2$ QL, $1/2$ WPM) солей и витаминов [1].

Среда MS является самой популярной средой в растительной биотехнологии, в качестве субстрата подходит большому спектру растений, в том числе для индукции каллусогенеза и морфогенеза при добавлении фитогормонов и регуляторов роста. Данная среда сбалансирована по нитратной (NO_3^-) и аммонийной (NH_4^+) формам азота. Среда B5 богата азотом, причем больше в аммонийной форме. По сравнению с остальными представленными средами в ней в несколько раз меньше B, Zn, Mn, Ca, очень мало K, но больше Na. Состав витаминов отличается отсутствием глицина и большим количеством

пиридоксина и никотиновой кислоты (в 2 раза) и тиамина (в 10 раз). Аммонийная форма азота преобладает над нитратной в составе среды QL. Также в ней отсутствует Мп, мало Mg, в 10 раз меньше I, чем в MS и B5. В среде WPM много S, больше Мп, чем в MS и B5, в 10 раз больше Си, чем в трех других средах, нет Со и I [1].

В течение роста наблюдали за растениями, через 6 недель отмечали высоту, количество листьев и ветвей, общее состояние растений.

Реакция растений на разный минеральный состав питательных сред была разнообразной и неоднозначной (табл.).

Таблица

Влияние минеральной основы питательной среды на параметры асептических растений *Dracocephalum moldavica*

сорт Горыныч			
Питательная среда	Высота растений, мм	Количество листьев, шт.	Количество боковых побегов, шт.
MS	26,8 ± 4,8	16,6 ± 1,9	3,24 ± 0,69
1/2 MS	32,7 ± 3,5	14,0 ± 0,6	1,72 ± 0,67
B5	11,4 ± 2,1	8,2 ± 0,9	0,16 ± 0,05
1/2 B5	80,0 ± 7,9	12,3 ± 0,8	0,00
QL	59,0 ± 10,8	15,0 ± 1,7	0,96 ± 0,28
1/2 QL	54,3 ± 8,9	12,4 ± 1,3	0,32 ± 0,16
WPM	47,2 ± 6,6	12,8 ± 1,6	0,60 ± 0,46
1/2 WPM	23,8 ± 9,1	10,8 ± 1,2	0,76 ± 0,44
сорт Лимонный аромат			
Питательная среда	Высота растений, мм	Количество листьев, шт.	Количество боковых побегов, шт.
MS	22,3 ± 4,4	24,0 ± 1,5	4,08 ± 0,77
1/2 MS	38,2 ± 5,2	14,5 ± 1,3	1,88 ± 0,36
B5	11,8 ± 2,6	7,4 ± 0,3	0,00
1/2 B5	62,4 ± 5,4	11,8 ± 0,8	0,33 ± 0,23
QL	53,5 ± 12,3	14,2 ± 1,2	0,96 ± 0,53
1/2 QL	45,9 ± 7,5	11,9 ± 1,0	0,84 ± 0,08
WPM	31,5 ± 3,2	11,3 ± 0,5	0,68 ± 0,37
1/2 WPM	29,2 ± 3,9	9,3 ± 0,4	0,16 ± 0,08

Самые низкие растения обоих сортов были на среде B5. У сорта Горыныч достоверно самые высокие растения образовывались на среде 1/2 B5, у сорта Лимонный аромат - на средах 1/2 B5 и QL. Больше всего боковых побегов у обоих сортов отмечено на среде MS. Совсем не образовалось боковых побегов на B5 у Лимонного аромата и на 1/2 B5 у сорта Горыныч. На остальных

вариантах их формировалось примерно одинаково меньше, чем на MS. У сорта Горыныч на B5 и у сорта Лимонный аромат на 14 WPM боковые побеги отмечали в единичных случаях. Достоверно большее число листьев зафиксировано у сорта Лимонный аромат на среде MS. У сорта Горыныч - на средах MS, QL, WPM. Меньше всего листьев образовалось на среде B5 (табл.).

Любое морфологическое изменение габитуса растений сопровождается изменением химической составляющей организма, в частности, ВМ. Отмирание апексов ингибирует рост растений в высоту. Изменение окраски может привести к снижению активности фотосинтеза, растение ослабляется, уменьшается биомасса. В связи с этим на данном этапе исследований необходимо подобрать такую питательную среду, на которой змееголовник молдавский развивался бы без явных морфологических отклонений.

Неоднозначность полученных результатов заключается в следующем. Несмотря на то, что на питательной среде MS формировалось больше всего листьев и боковых побегов, растения были небольшого роста, сильно изогнуты в узлах, апексы главного и боковых побегов отмирали, большинство листьев были мелкими и в основном на боковых побегах. Также верхушки стеблей чернели на среде *Vi* MS (но реже, чем на MS) наряду с изгибанием в узлах. Листья отмирали на среде B5 у обоих сортов, а у сорта Горыныч помимо этого стебель окрашивался в малиновый цвет. На среде QL растения были полностью светло-зелёными, при этом у сорта Горыныч имели коричневые полосы на главном побеге и изгибались в 1-ом или 2-ом узле. У сорта Лимонный аромат на среде $\frac{1}{2}$ QL светло-зеленой была только верхняя часть растений, а у сорта Горыныч — всё растение с малиновой окраской стебля у основания. Сильная вариабельность по высоте отмечалась на средах QL и $\frac{1}{2}$ QL. На средах WPM и $\frac{1}{2}$ WPM растения характеризовались средними значениями показателей. По морфологическим признакам лучше всего растения чувствовали себя на среде $\frac{1}{2}$ B5 - высокие, зеленые с большими листьями. Однако на этой среде не образовывались боковые побеги.

Вывод: Для получения растений змееголовника молдавского сортов Горыныч и Лимонный аромат в условиях *in vitro* без заметных морфологических отклонений (изменение окраски стебля и листьев, отмирание боковых побегов и апексов, искривления в узлах) следует проводить их культивирование на среде 'A B5.

Библиографический список

1. Калашникова Е.А., Чердиченко М.Ю. Основы биотехнологии. - М.: Изд-во РГАУ-МСХА, 2016. - 187 с.
2. Никитина, А.С. Фармакогностическое изучение змееголовника молдавского (*Dracocephalum moldavica* L.) и иссопа лекарственного (*Hyssopus officinalis* L.) с целью обоснования применения в фармации и медицине: автореф. дис. ... канд. фарм. наук: 15.00.02 / А.С. Никитина. - Пятигорск, 2008. - 21 с.

3. Попова О.И., Никитина А.С. Змееголовник молдавский и иссоп лекарственный: современный взгляд на растения: монография. — Волгоград: Изд-во ВолГМУ, 2014. - 222 с.
4. Решетников В.Н., Спиридович Е.В., Носов А.М. Биотехнология растений и перспективы ее развития // Физиология растений и генетика. - 2014. -Т. 46. № 1.-С. 3-18.
5. Varasteh K.N., Babaei A., Abdoli M. The effect of different sodium hypochlorite concentrations on seed germination of *Dracocephalum moldavica* L. // Austin Journal of Plant Biology. - 2015. - Vol. 1(2).-P. 1007.