

DOI 10.33952/2542-0720-2020-5-9-10-95

УДК (58.01+58.085): 581.3

Семёнова Елена Федоровна, Ведерникова Кристина Викторовна, Щетнёва Екатерина Юрьевна

Культура *in vitro* семян нонеи тёмно-бурой *Nonea pulla* DC.

Медицинская академия имени С.И. Георгиевского
ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского»
e-mail: sef1957@mail.ru, krispharm@mail.ru

В современной науке развивается ряд перспективных направлений, которые направлены на создание и сохранение биоразнообразия, а также интенсификации интродукционного процесса. Это связано с широким и комплексным использованием таких общебиологических явлений и разработанных на их основе принципиально новых методов лекарственных фитотехнологий как культура изолированных органов и др. [1, 2]. Культивирование в контролируемых условиях семян нонеи темно-бурой позволяет разработать современные способы получения сеянцев этого многолетнего перспективного лекарственного растения флоры Крыма. В связи с этим, для увеличения выхода растений из семян нонеи темно-бурой и ускорения интродукционного процесса необходимо было выявить возможности использования культуры *in vitro*. Для отработки основных приемов применительно к нонее были проведены предварительные эксперименты на материале, полученном от свободного опыления дикорастущих форм, произрастающих в степной и предгорной частях Крымского полуострова. Для стерилизации использовали влажную камеру с 80-96° этиловым спиртом, варьируя экспозицию от 5 до 100 секунд [3]. На мостиках из фильтровальной бумаги культивировали целые семена в модифицированной нами жидкой среде для фитообъектов [4]. Питательная среда содержала макросоли: фосфорнокислый калий, азотнокислый натрий, сернокислый магний, динатриевую соль этилендиаминтетрауксусной кислоты и микроэлементы: гидратированные соли сернокислого марганца, сернокислого цинка, сернокислой меди, борную кислоту. Было отмечено, что спустя одну неделю (или даже один месяц) после посадки на искусственную питательную среду начинала развиваться бактериальная и (или) грибная инфекция [5]. Этот факт свидетельствует о глубоком поражении плодов и семян в период их созревания, так как поверхностная стерилизация полностью не освободила экспланты от посторонней микрофлоры. Микробиологический анализ выявил присутствие представителя эпифитной микробиоты *Pantoea agglomerans* (*Erwinia herbicola*) – антагониста возбудителей мягкой гнили; представителей фитопатогенной микробиоты: возбудителей хронических многолетних инфекций - факультативных паразитов (полусапрофитов): *Alternaria sp.*, *Bipolaris sp.*, *Rhizopus sp.*, возбудителя серой гнили *Botrytis cinerea* Pers. Проведенные опыты подтвердили низкую всхожесть семян (5-9 %). При их культивировании наблюдали начальные этапы прорастания: набухание, разрыв околоплодника и семенной кожуры, выход зародыша с семядолями из покровов, раскрытие семядолей, но дальнейшее развитие в ряде случаев не происходило. Однако в 60 % случаев сформировались нормальные проростки. Причем было показано, что семена приобретают способность прорасти без предварительной холодной стратификации. Для последующего развития растений требуется питательная среда относительно несложного состава. Изучение роста и развития изолированных семян нонеи позволило проследить этапы формирования проростков: расхождение семядолей и приобретение ими зелёного цвета, удлинение главного корня, появление первого листа. В условиях *in vitro* максимального развития они достигали в течение 1,0-1,5 месяцев при 26±2 °С и освещенности 2000-3000 люкс с 16-ти часовым фотопериодом. В процессе

культивирования наблюдали отклонения от нормального их формирования: отрицательный геотропизм, недоразвитие корневой системы, образование более мелких и светлых настоящих листочков. Некоторые проростки имели розеточный тип развития, растянутость сроков своего формирования, деформацию рассечения листьев и другие аномалии. Установленная в ходе эксперимента изменчивость эксплантов по способности формировать нормальные проростки, вероятнее всего, определяется состоянием зародышей в семенах к моменту эксплантации и (или) генотипическими особенностями, а также эколого-географическим происхождением донорных растений. Вероятнее всего, в процессе формирования значительной части семян *in vivo* происходит остановка в развитии или дегенерация зародыша и эндосперма, обусловленные генетическими и физиологическими причинами. Проведенные опыты с использованием культуры семян позволяют сделать заключение о возможном влиянии нескольких групп факторов, обуславливающих низкую всхожесть семян нонеи темно-бурой: во-первых, остановка зародышей на ранних стадиях эмбриогенеза; во-вторых, нахождение семян в физиологическом покое; в-третьих, гибель зародышей вследствие поражения вредителями и болезнями различной природы. Последнее сказывается и на жизнеспособности проростка и, в конечном счете, на невысоком выходе сеянцев.

Литература

1. Семенова Е. Ф. Биотехнологические аспекты поисковых исследований и фармразработок инновационных фито-, микро-, бакпрепаратов // Материалы региональной конференции «Исследования и инновационные разработки в сфере медицины и фармакологии». Пенза: Изд-во ПГУ, 2011. С. 194–198.
2. Калашникова Е. А. Клеточная инженерия растений: учебник и практикум для вузов. М.: Издательство Юрайт, 2020. 333 с.
3. Семенова Е. Ф., Мельников В. Л., Преснякова Е. В., Жукова Н. Г., Осадча Г. А., Фадеева Т. М., Вилкова И. А., Морозкина Н. А., Митрофанова Н. Н., Правосудова Н. А., Митина Е. Е. Микробиологические исследования семян и плодов некоторых лекарственных культур // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Серия «Медицинские науки», 2008. № 2. С. 26–37.
4. Ходунова О. С., Силантьева Л. А. Влияние различных способов обработки на микробиологические показатели пророщенных семян овса // Научный журнал НИУ ИТМО. Серия «Процессы и аппараты пищевых производств». 2017. № 1. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://cyberleninka.ru/article/n/vliyanie-razlichnyh-sposobov-obrabotki-na-mikrobiologicheskie-pokazateli-proroschennyh-semyan-ovsa> (дата обращения 26.05.2020).
5. Назаренко Л. В., Долгих Ю. И., Загоскина Н. В., Ралдугина Г. Н. Биотехнология растений: учебник и практикум для вузов. М.: Издательство Юрайт, 2020. 161 с.

UDC (58.01+58.085): 581.3

Semenova E. F., Vedernikova K. V., Schetneva E. Yu.

***In vitro* culture of *Nonea pulla* DC. seeds.**

Summary. *Nonea pulla* DC. is a promising perennial medicinal plant growing in the Crimea. Controlled *in vitro* cultivation of nonea seeds allows improving the up-to-date techniques of seedlings preparation. The conducted experiments confirmed the low germinating capacity of seeds (5–9 %). To increase this parameter and to speed up the introduction process, we investigated the *Nonea pulla in vitro* culture. The initial phases of germination were expectedly observed during seeds cultivation. The seed swelling, rupture of pericarp and seed hull, release of germ with cotyledons, dehiscence of cotyledons were detected. Moreover, in some cases, no subsequent development was observed. However, normal germs formed in 60% of cases. Seeds also sprouted without the prior cold stratification. For the following growth, plants required a relatively simple culture medium. The maximum development conditions were reached after 1.0–1.5 months of *in vitro* cultivation (26±2 °C, illuminance of 2000–3000 lux, 16-hour photoperiod).

Keywords: introduction, medicinal plant, seed culture, *in vitro*, *Nonea pulla* DC.