

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНА АГРАРНА АКАДЕМІЯ НАУК
ПОЛТАВСЬКА ДЕРЖАВНА АГРАРНА АКАДЕМІЯ
ДОСЛІДНА СТАНЦІЯ ЛІКАРСЬКИХ РОСЛИН ІАІП НААН
ПОЛТАВСЬКЕ ВІДДІЛЕННЯ УКРАЇНСЬКОГО БОТАНІЧНОГО ТОВАРИСТВА

**Лікарське рослинництво: від досвіду
минулого до новітніх технологій**

Матеріали
восьмої Міжнародної науково-практичної конференції
29-30 червня 2020 р.

**Лекарственное растениеводство:
от опыта прошлого к современным
технологиям**

Материалы
восьмой Международной научно-практической конференции
29-30 июня 2020 г.

**Medicinal Herbs: from Past Experience
to New Technologies**

Proceedings
of Eighth International Scientific and Practical Conference
June, 29-30, 2020

Полтава: 2020 р

Л 56 Лікарське рослинництво: від досвіду минулого до новітніх технологій: матеріали восьмої Міжнародної науково–практичної конференції. 29–30 червня 2020 р., м. Полтава. РВВ ПДАА. 2020. 262 с.
<http://doi.org/10.5281/zenodo.4054586>

ISBN 978-617-7669-83-7

У збірнику восьмої Міжнародної науково-практичної конференції «Лікарське рослинництво: від досвіду минулого до новітніх технологій» наведено результати досліджень лікарських рослин: особливості їх інтродукції, біології, селекції, фізіології і фітохімії, розмноження і культивування, фармації, використання у сільському господарстві та промисловості.

В сборнике восьмой Международной научно-практической конференции «Лекарственное растениеводство: от опыта прошлого к современным технологиям» представлены результаты изучения лекарственных растений, особенности их интродукции, биологии, селекции, физиологии и фитохимии, размножения и возделывания, фармации, использования в сельском хозяйстве и промышленности.

The collection of the Eighth International Scientific and Practical Conference “Medicinal Herbs: from past experience to new technologies” presents the results of the investigations of medicinal plants, especially their introduction, biology, breeding, physiology and phytochemistry, propagation and cultivation, pharmacy, use in agriculture and industry.

Редакційна колегія:

Аранчій В. І., професор, ректор ПДАА (Україна) – **голова**, Устименко О. В., к. с.-г. н., директор ДСЛР ІАіП (Україна) – **співголова**, Поспелов С.В., д. с.-г. н. (Україна) – **відповідальний редактор**, Глущенко Л. А., к. б. н. (Україна) – **відповідальний секретар**, Атажанова Г.А., д. х. н. (Казахстан), Босак В.Н., д. с.-х. н. (Беларусь), Бурашева Г.Ш. д. х. н. (Казахстан), Буюн Л.І., д. б. н. (Україна), Ишмуратова М.Ю., асс. проф. (Казахстан), Кісничан Л. П., д. с.-г. н. (Молдова), Кисличенко В.С., д. ф. н. (Україна), Котюк Л.А., д. б. н. (Україна), Ламан Н.А., д. б. н., академик НАН (Беларусь), Мінарченко В.М., д. б. н. (Україна), Міщенко Л.Т., д. б. н. (Україна), Моїсєєв Д.В., д. ф. н. (Беларусь), Прохоров В. Н., д. б. н. (Беларусь), Рупасова Ж.А., д. б. н., чл.-кор. НАН (Беларусь), Sawicka Barbara, Full Professor (Poland), Тіток В.В., д. б. н., чл.-кор. НАН (Беларусь), Циганкова В.А., д. б. н. (Україна)

Рецензенти:

Гангур В.В. – доктор сільськогосподарських наук, зав. кафедрою рослинництва, Полтавська державна аграрна академія, Україна

Почерняєва В.Ф. – доктор медичних наук, професор кафедри онкології та радіології ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», науковий співробітник Державного Експертного центру МОЗ України, Україна

Клименко С.В. – доктор біологічних наук, професор, Національний ботанічний сад НАН України, Україна

На обкладинці: Гавсевич Петро Іванович (1883-1920), організатор системних досліджень лікарських рослин в Україні

Рекомендовано до видання Вченою радою Дослідної станції лікарських рослин ІАіП НААН (протокол № 3 від 06 липня 2020 р.)

Відповідальність за зміст, оригінальність і достовірність наведених матеріалів несуть автори; надруковано у авторській редакції

ISBN 978-617-7669-83-7

УДК: 633.88+615.32:58

ББК: 42.143 Кр

© – Полтавська державна аграрна академія, 2020 р.
© – Дослідна станція лікарських рослин ІАіП, 2020 р.
© – фото авторів, 2020 р.

УДК 581.14.6:634.738

Кутас Е. Н., Махонина О.И., Нехвядович А.В., Петралай О.Н., Титок В.В.
Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Беларусь

МОРФОГЕНЕЗ ИНТРОДУЦИРОВАННЫХ СОРТОВ КЛЕМАТИСОВ, ОБЛАДАЮЩИХ ЛЕКАРСТВЕННОЙ И ДЕКОРАТИВНОЙ ЦЕННОСТЬЮ, В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД

Ключевые слова: питательные среды, морфогенез, клематисы, сорта.

Общеизвестно, что клематисам присущи как лекарственные так и декоративные свойства. В этой связи важно получать посадочный материал этой культуры ускоренными темпами и в неограниченном количестве. Решить эту задачу можно с помощью клонального микроразмножения в основе которого лежит морфогенез и регенерация растений.

Вопросу морфогенеза в культуре клеток и тканей посвящена обширная литература. Ее анализ позволяет прийти к выводу, что морфогенез - сложный и многофакторный процесс, зависящий от типа и физиологического состояния экспланта, состава питательной среды, т.е. компонентов, содержащихся в ней (макро- и микроэлементов, витаминов, углеводов, гормональных добавок), а также от рН среды, условий культивирования и целого ряда других факторов. Подтверждением тому могут служить экспериментальные исследования [1-4].

Изучение морфогенеза интродуцированных сортов клематисов, обладающих целебным действием (гипотензивным, бактерицидным, противогрибковым, слабительным, мочегонным, потогонным) на различных модификациях питательных сред позволит определить оптимальный состав питательной среды для протекания этого физиологического процесса в условиях *in vitro*.

Объектами исследования служили пять интродуцированных сортов клематисов: “PatriciaAnnFretwell”, “Wildfire”, “Fujimusume”, “Asagosumy”, “Розовый фламинго”.

Эксперименты были поставлены на двух типах питательных сред (MS, Андерсена), представленных 6 различными модификациями (табл. 1).

В качестве эксплантов использовали микрочеренки, интродуцированных сортов клематисов: “PatriciaAnnFretwell”, “Wildfire”, “Fujimusume”, “Asagosumy”, “Розовый фламинго”, введенных в стерильную культуру. Стерильные экспланты высаживали на питательные среды Мурасиге-Скуга и Андерсена в колбы одинакового объема по 15 мл среды в каждой. Высаженный материал культивировали при температуре 26°C, влажности воздуха 56 %, фотопериоде 16 ч, освещенности 4000 лк. Повторность опытов трехкратная. Учитывалось количество побегов на эксплант (шт.), каллусообразование (мг) спустя 45 дней с момента высадки эксплантов на питательную среду. Статистическая обработка данных проведена исходя из 10 эксплантов на повторность. Экспериментальные данные сведены в табл. 2–3. В них приведены средние арифметические и их стандартные ошибки.

По истечении четырех недель культивирования из одного микрочеренка образовалось в среднем от 1 до 5 микропобегов в зависимости от состава питательной среды и сорта растения (табл. 2). Наибольшее количество регенерантов на эксплант (5 шт.) получено у двух сортов: “PatriciaAnnFretwell” и “Розовый фламинго” на среде MS (модификация № 4); наименьшее – 1 регенерант на эксплант у всех сортов без исключения на среде Андерсена (модификация № 5). На средах остальных модификаций (№1, №3, №6) исследованные сорта заняли промежуточное положение по данному показателю. У эксплантов клематиса (сорт “Asagosumy”) через 5–6 недель культивирования образовался органогенный каллус с последующей регенерацией из него вегетативных побегов. При этом следует отметить, что образование

органогенного каллуса и дальнейшая регенерация побегов происходили без предварительного пассирования каллуса на питательную среду другого состава. Таким образом, индукция каллусогенеза, а затем побегообразование происходили на среде одного и того же состава.

Из табл. 3 следует, что самым высоким морфогенетическим потенциалом обладают экспланты (сорт “Asagosumy”) на среде MS двух модификаций (2-ой и 4-ой см. табл. 1). В данном случае в основе морфогенеза лежит способность клеток эксплантов дедифференцироваться, т.е. терять свою прежнюю специализацию и превращаться в каллусные клетки. Превращение специализированных клеток в каллусные связано с индукцией клеточного деления, способность к которому клетки потеряли в процессе дифференциации [5].

Скугом и Миллером было установлено, что превышение содержания ауксина над цитокинином в среде вызывает индукцию корней; обратное соотношение, т.е. превышение цитокинина над ауксином приводит к образованию почек и стеблевых побегов [6].

Каллусные клетки (за исключением ауксин- и цитокининнезависимых опухолевых клеток) не могут сами синтезировать фитогормоны в достаточных количествах, необходимых для индукции процессов морфогенеза, поэтому нуждаются в экзогенных регуляторах роста. Каллусные клетки только при определенном соотношении цитокининов и ауксинов в среде могут перейти к организованному росту и формированию побегов. Это соотношение для каждого вида растения устанавливается экспериментальным путем. Подтверждением тому могут служить исследования, касающиеся регуляции морфогенеза в культуре клеток и тканей с помощью определенного соотношения ауксинов и цитокининов в питательной среде [7–10].

Нашими исследованиями показано на примере клематиса сорта “Asagosumy”, что для образования побегов из каллусной ткани в питательную среду необходимо добавлять цитокинины и ауксины в следующих соотношениях: 1,25:1 (среда № 1), 2,5:1 (среда № 2), 3,75:1 (среда № 4) (табл. 1).

Как показал анализ результатов экспериментальных исследований, полученных по изучению морфогенеза интродуцированных сортов клематисов, на шести модификациях питательных сред, различающихся по содержанию макро- и микросолей, гормональных добавок, лучшими для морфогенеза изученных растений оказались среды 4-ой и 2-ой модификаций, содержащие в своем составе макро- и микроэлементы по MS, а также гормональные добавки: 0,4 мг/л индолилуксусной кислоты, 1,5 мг/л бензиламинопурина; 0,4 мг/л индолилмасляной кислоты, 1,0 мг/л бензиламинопурина соответственно (табл. 1). На средах 4-ой и 2-ой модификаций в сравнении с таковыми 1, 3, 5 и 6-ой получено максимальное количество побегов на эксплант от 3 до 5 в зависимости от сорта клематиса (табл. 2).

Следовательно, лучшими для морфогенеза интродуцированных сортов клематисов оказалась среда 4-ой модификации, содержащая в своем составе макро- и микроэлементы по MS, а также гормональные добавки: 0,4 мг/л индолилуксусной кислоты, 1,5 мг/л бензиламинопурина, а также среда 2-ой модификации с 0,4 мг/л индолилмасляной кислоты и 1,0 мг/л бензиламинопурина. Показана принципиальная возможность регенерации интродуцированных сортов клематисов двумя методами: 1) путем активации пазушных меристем, 2) через пролиферацию каллуса и последующее образование из него побегов. Метод активации пазушных меристем может быть использован для клонального микроразмножения исследованных сортов клематисов, метод пролиферации каллуса и последующее образование из него побегов – в системе генетической трансформации для получения сортов с новыми декоративными и лекарственными свойствами.

Таблица 1. Состав питательных сред для изучения морфогенеза интродуцированных сортов клематисов

Компонент, мг/л	Модификация среды, №					
	1	2	3	4	5	6
Макросоли по MS	п.н.	п.н.	п.н.	п.н.	-	п.н.
Микросоли по MS	п.н.	п.н.	п.н.	п.н.	-	п.н.
Макросоли по Андерсену	-	-	-	-	п.н.	-
Микросоли по Андерсену	-	-	-	-	п.н.	-
Мезоинозит	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Аденин сульфат	-	-	-	-	80	-
Тиамин (B ₁)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,4	0,1
Пиридоксин (B ₆)	0,5	0,5	0,5	0,5	-	0,5
Никотиновая кислота (PP)	0,5	0,5	0,5	0,5	-	0,5
Глицин	0,2	0,2	0,2	0,2	-	0,2
Индолилуксусная кислота	-	-	0,4	0,4	-	-
Индолилмасляная кислота	0,4	0,4	-	-	-	-
Бензиламинопуриин	0,5	1,0	0,5	1,5	-	-
Сахароза, г/л	30,0	30,0	30,0	30,0	30,0	30,0
Агар, г/л	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0
pH	5,8	5,8	5,8	5,8	5,8	5,8

Примечание: «-» – компонент отсутствует в среде

Таблица 2. Побегообразование у интродуцированных сортов клематисов в зависимости от модификации питательной среды

Модификация среды, №	Количество регенерантов на один эксплант, шт.				
	“Patricia AnnFretwell”	“Fujimusume”	“Asagosumy”	“Wildfire”	“Розовый фламинго”
1	3,0±1,0	2,0±0,4	3,0±1,0	2,0±0,6	3,0±0,6
2	4,0±1,0	3,0±0,6	4,0±0,6	3,0±0,5	3,0±1,1
3	3,0±0,3	2,0±0,6	2,0±0,1	2,0±0,7	3,0±0,5
4	5,0±2,0	3,0±0,9	4,0±1,7	3,0±1,1	5,0±0,5
5	1,0±0,4	1,0±0,2	1,0±0,3	1,0±0,1	1,0±0,2
6	3,0±0,6	3,0±1,1	2,0±0,3	2,0±0,2	3,0±0,4

Таблица 3. Морфогенез интродуцированного сорта клематиса “Asagosumy” на средах различных модификаций

Модификация среды, номер	каллус, мг	побеги, шт.	Источник эксплантов (различные части микропобега)		
			верхняя	средняя	нижняя
1	127,5±5,4	3,0±1,0	+++	+++	+++
2	150,0±4,0	4,0±0,6	+++	+++	+++
3	102,0±2,3	2,0±0,1	++	++	++
4	143,0±3,9	4,0±1,7	+++	+++	+++
5	57,3±2,1	1,0±0,3	+	+	+
6	90,5±5,4	2,0±0,3	++	++	++

Примечание: «+» – морфогенез низкий, «++» – средний, «+++» – высокий

Библиография.

1. Rapid *in vitro* propagation of *Clematis heynei* M. A. Rau: An important medicinal plant / J. C. Jaykumar [et al.] // Emir. J. Food Agric. – 2012. – Vol. 24, N 1. – P. 79-84.
2. Micropropagation of *Clematis orientalis* L. culture *in vitro* / A. I. Sadeghabadi [et al.] // Journal of Herbal Durgs. – 2013. – Vol. 4, N 1. – P. 43-48.
3. Hala, Al. A. Almobasher. Comparison Study On *In Vitro* morphogenesis of Mature and Immature Wheat (*Triticumaestivum* L.) Embryos / Al. A. Almobasher Hala // International Journal of Advanced Biotechnology and Research. – 2016. – Vol. 7, N 3. – P. 1134-1141.
4. Ali, J. Protocol optimization for *in vitro* shoot multiplication of Jackfruit (*Artocarpusheterophyllus* L.) / J. Ali, K. Bantte, T. Feyissa // African Journal of Biotechnology. – 2017. – Vol 16, N 2. – P. 87-90.
5. Бутенко, Р.Г. Экспериментальный морфогенез и дифференциация в культуре клеток растений / Р.Г. Бутенко. – М.: Наука, 1975. – 51 с.
6. Skoog, F. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured *in vitro* / F. Skoog, C.O. Miller // Indian. J. Plant. Physiol. – 1957. – N 11. P. – 118 - 123.
7. Sweety, M. *In Vitro* Rapid Clonal Propagation of *Plumbagozeylanica* Linn. Through Direct Organogenesis / M. Sweety, M. Rahman // International Journal of Advanced Biotechnology and Research. – 2016. – Vol. 7, N 3. – P. 877-887.
8. The effect that indole-3-butyric acid (IBA) and position of cane segment have on the rooting of cuttings from grapevine rootstocks and from Cabernet franc (*Vitisvinifera* L.) under conditions of a hydroponic culture system / I. Daskalakis [et al.] // Scientia Horticulturae. – 2018. – N 227. – P. 79-84.
9. Effects of rooting media and indole-3-butyric acid (IBA) concentration on rooting and shoot development of *Durantaerecta* tip cuttings / ShiriMejury [et al.] // African Journal of Plant Science. – 2019. – Vol. 13, N 10. – P. 279-285.
10. Influence of indole-3-butyric acid (IBA) concentrations on air layerage in guava (*Psidiumguajava* L.) cv. Sufeda / S. Gilani [et al.] // Pure and Applied Biology. – 2019. – Vol. 8, N 1. – P. 355-362.