

Результаты показали, что лучшие результаты по всхожести и энергии прорастания семян скабиозы бледно-желтой были получены на фоне применения глицерина 40 %, что на 7,6 % выше контрольных значений. Остальные варианты оказались по всхожести ниже контроля.

Таким образом, наилучшие результаты по жизнеспособности семян скабиозы бледно-желтой после криоконсервации получены при применении пластиковой тары и размораживании на водяной бане, оптимальным криопротектором признан – глицерин 40 %.

#### Список литературы

1 Reed В.М. The basics of in vitro storage and cryopreservation // National Clonal Germplasm Repository, Corvallis, O.R. USA. – 2002. – P. 34-46.

2 Розанов С.И. Место генетических криобанков в решении проблемы сохранения биоразнообразия // Биофизика живой клетки. - 1994. - Т. 6. - С. 8.

3 Шевченко Н.А. Влияние криопротекторов и режимов криоконсервирования на сохранность меристемных тканей растений // Автореф. дис. ...канд. биол. наук. – Харьков, 2006. – 19 с.

4 Вержук В.Г., Павлов А.В. Анализ эффективности методов криоконсервации по показателю жизнеспособности плодовых растений после криосохранения // Научный журнал НИУ ИТМО. Серия «Процессы и аппараты пищевых производств». – 2015. - № 2. –С. 167-171.

5 Кушнарченко С.В., Мухитдинова З.Р., Аралбаева М.М. Криоконсервация семян: методические рекомендации. – Алматы: Изд-во Ин-та биологии и биотехнологии растений, 2011. – 33 с.

6 Зорина М.С., Кабанов С.П. Определение семенной продуктивности и качества семян интродуцентов // Методики интродукционных исследований в Казахстане / Сб. науч. тр. - Алма-Ата: Наука, 1986. - С. 75-85.

<sup>1</sup> А.Б.Мырзагалиева, <sup>2</sup> А.Е. Оразов, <sup>1</sup> Н.М. Сүлейменова

#### **ВВЕДЕНИЕ В КУЛЬТУРУ IN VITRO VALERIANA OFFICINALIS L.**

ВКГУ им. С. Аманжолова, г Усть-Каменогорск, Казахстан  
КазНУ им. аль-Фараби, г. Алматы, Казахстан

Одним из ценных лекарственных растений является валериана лекарственная (*Valeriana officinalis* L.), в корневище которой обнаружено около 100 индивидуальных веществ. Корни содержат до 0,5-2% эфирного масла, компонентами которого является борнилизовалерианат (валериано-борнеоловый эфир), изовалериановая кислота в свободном состоянии, борнеол, бициклические монотерпены (камфен, а-пинен, d-терпинеол, l-лимонен), а также сесквитерпены, борнеоловые эфиры муравьиной, уксусной и масляной

кислот, азотсодержащий спирт и кессиловый спирт - проазулен (трициклический сесквитерпеновый спирт); алкалоиды - актинидин (оказывающий возбуждающее действие на кошек), валерин, хатинин, дубильные вещества, сапонины, сахара, органические кислоты (муравьиная, уксусная, яблочная, стеариновая, пальмитиновая и др.), гликозиды (валерид, валерозиды А, В и С), монотерпеновый алкоголь мертинол в свободном виде и виде эфира изовалериановой кислоты. Агликоном валерозидов А, В и С является валерогенин, относящийся к тритерпеновым кетонам [1].



Рисунок 1 - Валериана лекарственная (*Valeriana officinalis* L.) на интродукционном участке

Рост популярности данного вида растений среди населения приводит к истощению природных популяций, в связи с чем возникает необходимость применения новых методов размножения вида. Одним из методов сохранения биологического разнообразия растений является метод клонального микро размножения, благодаря которому можно получить генетически однородный посадочный материал, свободный от вирусов. С помощью данного метода может получить высокий коэффициент размножения труднопроизводимых традиционными методами растений [3].

Целью нашей работы явилось изучение особенностей введения в культуру *in vitro* семян *Valeriana officinalis* L., как особо ценного и хозяйственно полезного вида для обеспечения лекарственным сырьем фармацевтической промышленности.

Для ведения в стерильную культуру данного вида растения и получения первичного материнского материала в качестве экспланта были использованы семена (рис. 2). Семена является самым оптимальным видом экспланта данного растения. Они хорошо переносят транспортировку, хранение и не требуют постоянного и длительного ухода. Масса семян незначительная.

Семена были предварительно промыты проточной водой, следом мыльным раствором 20 мин, затем в асептических условиях ламинар бокса обрабатывали последовательно 95% этанолом 5 мин, 5% гипохлоритом натрия 20 мин и трижды ополаскивали стерильной дистиллированной водой. Количество

посаженных семян в пробирках составило по 10 штук в разные по составу среды. Количество инфицированных пробирок указано в таблице 1.

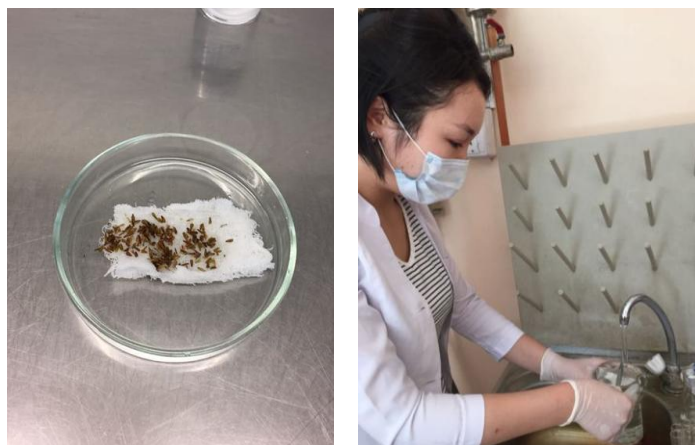


Рисунок 2 – Работа с созревшими семенами *Valeriana officinalis* L.

Во время введения растения в стерильную культуру важную роль играет правильно подобранные стерилизующие агенты, также их очередность применения и время контакта с семенами.

Протокол стерилизации производился по зарекомендованной и отработанной схеме (таблица 1) с применением гипохлорита натрия. В качестве схемы стерилизации использовалась схема, опубликованная нами в предыдущих трудах по данной теме исследования [4].

Таблица 1 – Схемы стерилизации

Схемы	Предковый номер применения	Стерилизующее вещество	Время контакта	Количество всаженных семян, шт.	Из них – инфицировано, шт.	Из них – без признаков инфекции, шт.
1	1	Промывка проточной водой	20 мин	50	10	40 (80%)
	2	Промывка мыльным раствором	30 мин			
	3	97% этанол	5 мин			
	4	5% гипохлорит натрия	20 мин			
	5	Промывка в 4 порциях дистиллированной воды	10 мин			
2	1	Промывка проточной водой	20 мин	50	30	20 (40%)
	2	Промывка мыльным раствором	30 мин			
	3	10 % раствор пероксида водорода – 20 мин	5 мин			
	4	95% этанол 5 мин	20 мин			
	5	Промывка в 4 порциях	10 мин			

		дистиллированной воды				
--	--	--------------------------	--	--	--	--

Самой оптимальной схемой стерилизации семян валерианы является схема под номером 1 (промывка проточной водой, промывка мыльной раствор, 97% этанол, 5% гипохлорит натрия, промывка в 4 порциях дистиллированной воды) (таблица 1).

Питательная среда – основной фактор, обуславливающий успех клонального микроразмножения. Важным фактором, регулирующим дифференциацию и морфогенез изолированных тканей, является наличие в питательной среде регуляторов роста – ауксинов и цитокининов. В основу состава питательной среды была положена стандартная среда Мурасиге-Скуга (MS), которая содержит хорошо сбалансированный состав питательных веществ. Остальные образцы сред являются ее модификациями с различными комбинациями и добавками регуляторов роста (табл. 2). В качестве посуды для эксперимента использовались лабораторные пробирки объемом 20 мл. Вся процедура проводилась в стерильных условиях. Пробирки с питательной средой, инструментарий и дистиллированная вода проходила процедуру автоклавирования [5].

В качестве питательной среды была использована питательная среда по прописи Мурасиге-Скуга с добавками регуляторов роста. Приготовлению питательной среды уделялось большое внимание. Соблюдались общие санитарно-гигиенические требования к помещению лаборатории и стерильные условия для химических реагентов и инструментов [6].

На основе литературных данных было приготовлено пять разновидностей оптимальных питательных сред по прописи (таблица 2)

Таблица 2 – Состав питательных сред для введения в культуру

№	Состав среды
1.	Мурасиге/Скуга с БАП 2 мг/л
2.	Мурасиге/Скуга с ИУК 0,1 мг/л, БАП 2 мг/л и пониженное содержание сахарозы 15 г/л
3.	Мурасиге/Скуга с ИУК 1 мг/л, БАП 1 мг/л, кинетин 1 мг/л, гибберелловая кислота 0,1 мг/л
4.	Мурасиге/Скуга с БАП 1 мг/л, кинетин 1 мг/л, гибберелловая кислота 0,1 мг/л
5.	Мурасиге/Скуга, кинетин 1 мг/л, гибберелловая кислота 0,1 мг/л

Семена культивировались при температуре 25-30 °С, при фотопериоде 16 часов в сутки. На 40 день культивирования было замечено прорастание семян на среде под номером 3 с добавлением БАП 1 мг/л, кинетин 1 мг/л, гибберелловая кислота 0,1 мг/л. Прорастание остальных семян на других питательных средах было замечено позже, с задержкой на 3-5 суток (рис. 3).

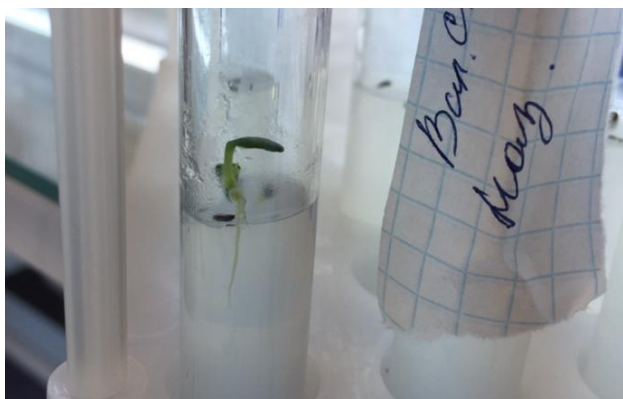


Рисунок 3 – Проросшие семена *Valeriana officinalis* L. в стерильной среде на 8 день культивирования



Рисунок 4 – Проросшие семена *Valeriana officinalis* L. в стерильной среде на 60 день культивирования

На 60 день культивирования было замечено появление настоящих листьев, что позволило перейти к дальнейшему этапу микроклонального размножения (рис. 4). Серия экспериментов с регуляторами роста цитокинином и ауксином должны привести к активному росту изолированных семян *Valeriana officinalis* L. Нами проанализировано процентное соотношение жизнеспособных семян *in vitro*, отмеченное на 60 день культивирования.

Оптимальным оказался состав питательной среды № 3 (рис. 5) по составу: Мурасиге-Скуга с ИУК 1 мг/л, БАП 1 мг/л, кинетин 1 мг/л, гибберелловая кислота 0,1 мг/л (количество жизнеспособных эксплантов 95%).

Таблица 3 – Количество жизнеспособных эксплантов

№	Вид	Тип питательной среды (таблица 2)	Число эксплантов	Из них жизнеспособных эксплантов	
				Численное соотношение	Процентное соотношение
1.	<i>Valeriana officinalis</i> L.	1	20	9	45%
2.		2	20	12	60%
3.		3	20	19	95%
4.		4	20	13	65%
5.		5	20	8	40%

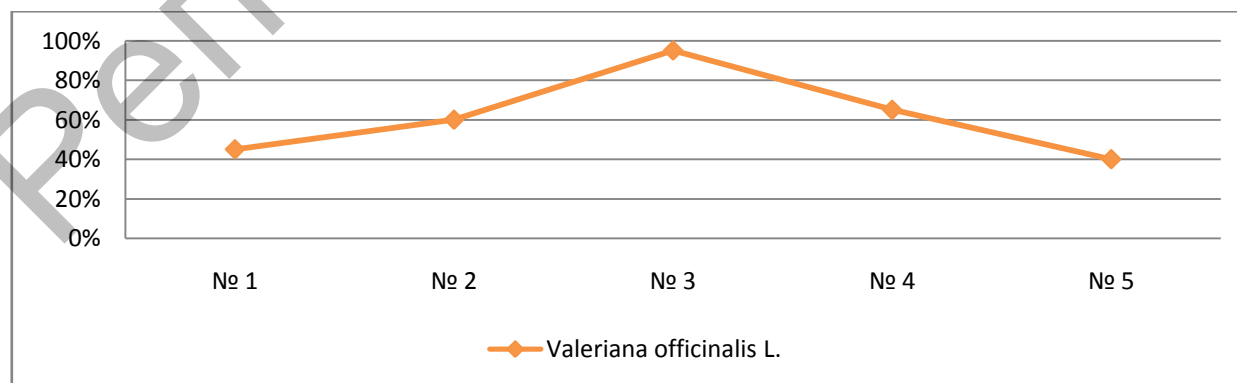


Рисунок 5 - Жизнеспособность семян

Таким образом, проведенное изучение условий культивирования *Valeriana officinalis* L. *in vitro* показала возможность эффективного применения данного метода для размножения вида. Предложенный способ микрклонального размножения для видов выгоден тем, что дает возможность быстро размножить в культуре *in vitro* и в дальнейшем реинтродуцировать лекарственные растения, позволяя таким образом решить актуальную проблему воспроизведения и сохранения биоразнообразия, а также использовать полученные растения в качестве источника растительного сырья, посадочного материала.

Разработка приемов получения первичного материнского материала для микрклонального размножения *Valeriana officinalis* L. *in vitro* имеет большое значение для сохранения генофонда данного вида. Исходя из этого, будет продолжен поиск и отработка оптимальных приемов и методов дальнейшего размножения в больших масштабах.

#### Список литературы

1. Валериана (корневища с корнями валерианы). <http://www.pharmspravka.ru/entsiklopediya-lekarstvennyih-rasteniy/lekarstvennyie-rasteniya-v/valeriana-kornevischa-s-kornyami-valeri.html>,
2. Хишова О.М., Ищенко В.И., Кугач В.В. Разработка состава и технологии таблеток корневищ с корнями валерианы // Достижения медицинской науки Беларуси. НИО РНМБ (1998). Проверено 21 октября 2013.
3. Преимущества микрклонального размножения перед традиционными способами размножения растений. История метода // [http://www.biotechnolog.ru/pcell/pcell6\\_1.htm](http://www.biotechnolog.ru/pcell/pcell6_1.htm).
4. Мырзагалиева А.Б., Акзамбек А.М., Оразов А.Е. Особенности развития *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) при микрклональном размножении в условиях культуры *in vitro*. // Материалы межд.науч.-практ.конф. «Современные проблемы биотехнологии: от лабораторных исследований к производству». – Алматы: КазНУ имени аль-Фараби, 2016. – С. 79.
5. Высоцкий В.А. Биотехнологические методы в системе производства оздоровленного посадочного материала и селекции плодовых и ягодных растений: автореф. дис. ... д-ра с.-х. наук: 06.01.07 / Высоцкий Валерий Александрович. – М., 1998. – 44с.
6. Бутенко Р.Г. Биология культивируемых клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе. Монография. – Москва: ФБК-Пресс, 1999. – 159 с.