

МИКРОКЛОНАЛЬНОЕ РАЗМНОЖЕНИЕ КОТОВНИКА ГИБРИДНОГО.

В.Л.Налобова, В.В.Акименко

«РУП Институт овощеводства НАН Беларуси». Минск. Республика Беларусь.

Метод микроклонального размножения широко используется для размножения наиболее ценных растений с уникальными свойствами. К таким растениям относится котовник гибридный.

Котовник гибридный – межвидовой гибрид *Nepeta transcaucasica* × *Nepeta grandiflora* – многолетнее травянистое растение семейства Яснотковых (*Lamiaceae*).

Котовник повышает защитные силы организма, положительно влияет на сердечно-сосудистую, нервную и дыхательную системы, возбуждает аппетит. Котовник употребляют при малокровии, кашле, заболеваниях печени, атонии кишечника, гинекологических заболеваниях, как антигельминтное средство.

Традиционные методы вегетативного размножения – деление куста и укоренение одревесневших и полуодревесневших черенков ограничены сезонно и дают относительно небольшой выход посадочного материала. Поэтому эту проблему можно решить с помощью микроклонального размножения растений в культуре *in vitro*.

Известен способ микроклонального размножения котовника гибридного путём использования в качестве эксплантов листьев и стеблей, помещаемых на питательную среду, содержащую макро и микросоли, витамины по Гамборгу, фитогормоны, для инициации каллусообразования и последующей регенерации до полноценных растений

Этот способ обладает недостатками, которые заключаются в дороговизне компонентов питательной среды, сравнительно длинном процессе регенерации, достигающем до 45 суток.

С целью закладки плантации котовника гибридного нами было осуществлено размножение растений в культуре *in vitro* с использованием традиционной питательной среды по Мурасиге-Скуга.

В качестве экспланта использовали апикальную и боковую меристемы стеблевых черенков растений (без листьев) с хорошо развитых 2-3 летних кустов котовника гибридного. Острым лезвием нарезали побеги, длиной 10-15 см, с верхушечной почкой и с 3-мя боковыми (пазушными) почками.

На листе бумаги побеги разрезали лезвием на участки 3-4 см, содержащие участок стебля и 1 пару листьев, верхушку отрезали отдельно. Листья удаляли, оставляя только черешок или 1/3 листовой пластинки.

Подготовленные черенки помещали в колбу или банку, закрытую марлей и промывали под проточной водой (под краном), сначала с добавлением 2-3 капель любого жидкого мыла или жидкого средства для мытья посуды, затем промывали до исчезновения пены.

Промытые черенки пинцетом доставали из колбы и погружали сначала в 70 % этанол на 10 секунд, затем ополаскивали стерильной дистиллированной водой и помещали в 0,1 % раствор сулемы на 20 секунд. После этого черенки три раза промывали стерильной дистиллированной водой, меняя воду через каждые 3 минуты.

Простерилизованные экспланты извлекали из воды по 1 штуке и на стерильной бумаге острым стерильным инструментом (скарификатором) обновляли срезы на черенках на 0,5-1 мм. Обрезанный черенок (эксплант) пинцетом помещали в пробирки с питательной средой строго вертикально, погружая конец черенка в среду на 5-8 мм

С целью подбора оптимальной питательной среды, которая позволяла бы получить наибольший выход растений с небольшого экспланта, а так же обеспечивала

достаточно хорошую выживаемость полученных регенерантов, была использована питательная среда Мурасиге-Скуга с полным набором витаминов по Мурасиге-Скуга с поэтапным изменением ее основных компонентов: минеральной основы, витаминов, оставляя без изменения следующие добавки – сахарозы 30 г/л, агара 4,5 г/л, регуляторов роста БАП 0,5 мл/л, 0,2 мл/л ИМК, гибберелловой кислоты - 0,5 мл/л.

В результате исследований отмечено, что на питательной среде Мурасиге-Скуга с полным набором витаминов по Мурасиге-Скуга - развитие эксплантов происходило примерно на 4-5 день после посадки, через 8-10 дней часть растений укоренялась. Отмечено также достаточно высокая выживаемость регенерантов – 83 %. При снижении концентрации витаминов вдвое и мезоинозитола - до 100 мг/л, а так же исключение такого компонента, как глицин, привело к увеличению выживаемости регенерантов до 95 %.

С целью увеличения выхода регенерантов данная среда была модифицирована ингибиторами фенолов - активированным углём (10 % от объёма), витамином С (аскорбиновой кислотой) - 1 мл/л, а также увеличением доли ИМК с 0,2 до 0,5 мл/л.

Добавление в среду витамина С не вызывало каких-либо видимых изменений в развитии растений *in vitro*.

На среде, содержащей активированный уголь, образовывались регенеранты в виде конгломератов, состоящих из большого количества побегов. Один конгломерат содержал 10-20 регенерантов, которые можно использовать в качестве вторичных эксплантов для пересадки. В то же время, на среде без активированного угля образуются одиночные регенеранты.

Наличие конгломератов даёт возможность получить большое количество вторичных эксплантов за один пассаж, а значит сокращает количество исходного материала, а также время и затраты на приготовление сред для выращивания регенерантов для черенкования.

В процессе исследований отмечено, что регенеранты, полученные при разделении конгломератов, не укоренялись на среде с активированным углем, в тоже время они нормально развивались на среде без активированного угля. Поэтому при пересадке вторичных эксплантов, для получения хорошо развитых и укоренившихся растений необходимо использовать среду без активированного угля.

Следовательно, оптимальной средой для получения конгломератов является среда, включающая минеральную основу по Мурасиге-Скуга, половинный набор витаминов по Мурасиге-Скуга за исключением глицина и добавки- 30 г/л сахарозы, 4,5 г/л агара, регуляторы роста БАП, ИМК, гибберелловую кислоту, дополненная ингибитором фенолов – активированным углем.

Таким образом, нами подобрана питательная среда и отработана наиболее продуктивная схема цикла развития котовника гибридного в культуре *in vitro*.

Она включает ряд последовательных этапов:

1. Посадка эксплантов на среду с активированным углём и получение конгломератов, состоящих из большого количества регенерантов.
2. Разделение и пересадка регенерантов на среду без активированного угля и получение полноценных растений.

Данная схема микроклонального размножения позволяет получить большее количество регенерантов из одного экспланта.

В 2002-2003 годах получено 820 растений, которые использованы для закладки плантации котовника гибридного.