ВЛИЯНИЕ ФОТОПЕРИОДА И ПРЕПОСЕВНОЙ ОБРАБОТКИ НА ВСХОЖЕСТЬ *IN VITRO* *PHYSALIS ANGULATA*

О.Н. Козлова, М.В. Медвецкая, О.В. Чижик

Центральный ботанический сад НАН Беларуси, г.Минск, Республика Беларусь, e-mail:
cbgconf@gmail.com

Изучено влияние фотопериода и предпосевной обработки на всхожесть *Physalis angulata*. Всхожесть семян наблюдали только в условиях «короткого дня». Предпосевная обработка семян раствором GA₃ не оказала значительного влияния на всхожесть. Оптимальной средой для получения сеянцев *in vitro* является среда 1/2 MS + 20 г / л сахарозы.

Ключевые слова: асептическая культура; питательные среды; физалис угловатый; *Physalis angulata*; предпосевная обработка; фотопериод

INFLUENCE OF PHOTOPERIOD AND PRE-SOWING TREATMENT ON SEED GERMINATION *IN VITRO* OF *PHYSALIS ANGULATA*

V.M. Kazlova, M.V. Medvetskaya, O.V. Chizhik

Central Botanical Garden NAS of Belarus, Minsk, Belarus, e-mail: cbgconf@gmail.com

The effect of photoperiod and pre-sowing treatment on germination ratio of *Physalis angulata* was studied. Germination of seeds was observed only under “short day” conditions. Presowing seed treatment with GA₃ solution did not have a significant effect on germination, and the highest percentage of germination was obtained using 1/2 MS + 20g / L sucrose.

Key words: plant aseptic culture; plant tissue culture media; *Physalis angulate*; pre-sowing treatment; photoperiod

Высшие растения являются источниками ценных вторичных метаболитов, обладающих широким спектром биологического действия. Запасы большинства лекарственных растений в природе ограничены, для целого ряда видов не разработаны (или невозможны) технологии размножения *in vivo* [1]. Решить проблему дефицита сырья и сохранить в природе ценные лекарственные растения помогут методы получения биологически активных веществ из культивируемых органов, тканей и клеток [1]. Методы *in vitro* широко применяются для производства лекарственных растений, особенно для быстрого размножения, сохранения и увеличения производства вторичных метаболитов [2].

Physalis (Физалис) – представитель сем. *Solanaceae* (Пасленовые). Родиной данного рода как культурных растений является преимущественно Мексика. Физалис содержит широкий ряд БАВ, в том числе алкалоиды, что обуславливает противоопухолевые свойства экстрактов растения [2]. Получение каллусных культур как продуцентов БАВ невозможно без асептической культуры побегов, таким образом, инициация асептических культур является необходимым этапом любого исследования в данной области.

В экспериментах по получению асептических культур *Ph.angulata* были использованы семена, собранные на территории Вьетнама сотрудниками Института Научных Исследований Минтрунга ВАНТ. Большинство семян в пробах, отобранных для экспериментов, были выполненными и не имели внешних повреждений. Согласно Seed Information Database (Kew, GB) семена большинства

видов рода физалис относятся к фотоиндуцибельным, т.е. лучше прорастают в условиях периодической освещенности. Так же для многих видов принципиальным является продолжительность светового периода в течение суток. Показано, что физалис относится к растениям короткого дня и его семена начинают прорастать при длительности фотопериода не более 8 часов [3]. Для ряда культур с фотоиндуцибельным прорастанием семян установлен стимулирующий эффект, оказываемый предпосевной обработкой семян гибберелловой кислотой в течение суток [4]. Таким образом, в нашем эксперименте предполагалось оценить влияние длительности фотопериода и предварительной обработки ГК₃ в концентрации 50 мг/л на всхожесть *in vitro Ph.angulata*.

В эксперименте для стимуляции прорастания проводили предварительное замачивание части семян в течение суток в растворе гибберелловой кислоты (ГК₃) в концентрации 50 мг/л. В контрольных вариантах семена замачивали в дистиллированной воде. Для стерилизации семенного материала использовали 0,1 % нитрат серебра. Время экспозиции составило 10 минут с последующей двукратной отмывкой стерильной дистиллированной водой. После стерилизации семена помещали на поверхность плотных агаризованных сред в чашки Петри. В качестве основной среды культивирования была использована среда МС [5] в различных модификациях. Для проращивания семян физалиса использовали следующие варианты питательных сред: 1) 0,7% «голодный» агар; 2) ½ МС без сахарозы; 3) ½ МС с 20г/л сахарозы. Культивирование посевов осуществляли на стеллажах с подсветкой. Основным режим культивирования был: температура 26°C ± 2°C, освещенность 3 000 лк. В эксперименте было использовано два варианта фотопериодичности «день» / «ночь»: 8ч/16ч и 16ч/8ч. В экспериментах оценивали всхожесть (в % от общего числа семян), наличие грибной и бактериальной контаминации посевов, а также некроз сеянцев на ранних этапах развития. Все эксперименты проводились в трехкратной повторности. Статистическую обработку результатов проводили с помощью программ Microsoft Excel и STATISTICA 8.0 (StatSoft).

После трех недель культивирования всходы *Ph.angulata* наблюдали на всех вариантах сред как при использовании в предпосевной обработке раствора 50 мг/л ГК₃ так и в контрольных вариантах при использовании фотопериода 8ч/16ч (таблица). В условиях «длинного дня» (фотопериод 16ч) всходов не наблюдали во всех вариантах опыта.

Статистический анализ полученных данных показал, что на всхожесть *Ph.angulata* в культуре *in vitro* достоверно влияли условия культивирования, в частности фотопериод. Только при «коротком дне» удалось получить полноценные развитые сеянцы во всех вариантах опыта. Предпосевная обработка семян раствором ГК₃ не оказывала существенного влияния на всхожесть. Достоверно на результаты всхожести влиял состав питательных сред (таблица 1). Наибольший процент всхожести был получен при использовании ½ МС + 20% сахарозы. При использовании и 0,7% агара или ½ МС результаты были слишком разрозненными, о чем говорит большая погрешность. Оценка влияния состава питательных сред на всхожесть *Ph.angulata* требует дальнейшего изучения с привлечением большего количества семенного материала.

Таблица – Влияние фотопериода и предпосевной обработки на всхожесть *Ph.angulata* в асептической культуре
 Table - Effect of photoperiod and pre-sowing treatment on *Ph.angulata* germination in aseptical culture

Фотопериод	Предпосевная обработка	Вариант среды	Всхожесть, %	Инфекция, %*
8ч/16ч	Контроль (H ₂ O)	0,7% агар	3,7±3,7	66,7
		½ МС	14,8±14,8	-
		½ МС + 20% сахарозы	30,6±14,6	33,3
	50 мг/л ГК ₃	0,7% агар	3,7±3,7	33,3
		½ МС	40,0±20,0	-
		½ МС + 20% сахарозы	27,8±9,6	-
16ч/8ч	Контроль (H ₂ O)	0,7% агар	-	33,3
		½ МС	-	66,7
		½ МС + 20% сахарозы	-	-
	50 мг/л ГК ₃	0,7% агар	-	-
		½ МС	-	-
		½ МС + 20% сахарозы	-	-

* - учитывалась как грибная, так и бактериальная контаминация посевов. % грибной инфекции был крайне низким (единичные образцы), в то время как основной была бактериальная контаминация.

Полученные нами данные о влиянии фотопериода на всхожесть *Ph.angulata* согласуются с результатами других авторов [2,6]. Относительно невысокий процент всхожести в нашем случае так же может объясняться качеством семян. В последующих экспериментах предполагается использовать семена репродукции ЦБС с известным сроком хранения. Максимальное количество всходов наблюдали на седьмой день культивирования. В дальнейшем увеличения всхожести во всех вариантах опыта не происходило, что так же согласуется с результатами L.M.S. Mascarenhas et al., полученными для *Ph. peruviana* [6].

После семи дней культивирования часть посевов из условий «короткого дня» переносили в условия «длинного дня», что сказалось на внешнем виде и размере сеянцев. Растения, которые развивались в условиях 16-ти часового фотопериода, были крупнее и имели большее число междоузлий. Таким образом, при получении культуры сеянцев *Ph.angulata in vitro* использование режима «короткого дня» оправдано только до момента всхожести семян. После формирования семядольных листьев дальнейшее культивирование растений лучше проводить при 16-ти часовом фотопериоде. При пересадке в банки на среду для доращивания все полученные сеянцы успешно росли и развивались. Для дальнейшего размножения в культуре *in vitro* использовали одно-двух узловые черенки подросших сеянцев. Полученные на безгормональной среде растения-регенеранты были использованы в экспериментах по каллусогенезу.

Работа выполнена при поддержке гранта БРФФИ Б19ВА-005 «Использование метода фингерпринтинга для сравнения основных компонентов материнского растения и *in vitro* культур и тканей этно-лекарственных растений (*Physalis angulata*, *Physalis minima* и *Ophiorrhiza japonica*) Вьетнама и Беларуси».

Библиографические ссылки

1. Verpoorte R., Contin A., Memelink J. Biotechnology for the production of plant secondary metabolites // *Phytochem. Rev.* 2002. Vol. 1. P. 13–25.

2. In Vitro Micropropagation of the Medicinal Plant *Physalis angulata* L. / Owk Aniel Kumar [et al.] // Not Sci Biol. 2016. Vol. 8, n.2. P. 161–163.
3. Справочник по проращиванию покоящихся семян / М. Г. Николаева [и др.]. – Ленинград: Наука, 1985. 348 с.
4. Conservation *in vitro* of threatened plants – progress in the past decade / V.A.Sarasan [et al.] // In Vitro Cellular and Developmental Biology. 2006. Vol. 42. P.206–214.
5. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture / T. Murashige [et al.] // Physiol. Plant. 1962. Vol.15. P.473–497.
6. Micropropagation of *Physalis peruviana* L. / Mascarenhas, L.M.S. [et al.] // Pesq. Agropec. Trop., Goiânia. 2019. V. 49. P.1–8.