

Масленников Андрей Викторович

канд. биол. наук, доцент, профессор

Масленникова Людмила Анатольевна

канд. биол. наук, доцент, профессор

ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный педагогический университет им. И.Н. Ульянова»

г. Ульяновск, Ульяновская область

DOI 10.31483/r-98665

ПЕРСПЕКТИВНЫЙ И ХОЗЯЙСТВЕННО ЦЕННЫЙ ВИД СПИЛАНТЕС ОГОРОДНЫЙ (*ASMELLA OLERACEA* (L.) R.K. JANSEN) КАК ОБЪЕКТ КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

Аннотация: в статье рассматриваются подходы к разработке методики микрклонального размножения нового перспективного и хозяйственно ценного вида спилантеса огородного (*Asmella oleracea* (L.) R.K. Jansen) *in vitro*. Работа по отработке методики получения калусной культуры спилантеса начата в 2018 году. В 2019 и 2020 годах из семенных, листовых и побеговых эксплантов *Asmella oleracea* (L.) R.K. Janse были получены калусные культуры.

Ключевые слова: культура клеток, каллус, биотехнология, практически значимый вид, спилантес огородный.

В практической биотехнологии и агрономии быстрое и массовое размножение перспективных сортов хозяйственно значимых видов растений бывает не всегда возможно из-за их биологических особенностей: малой семенной продуктивности, низкой всхожести и высокой поражаемости проростков грибковыми, вирусными и бактериальными болезнями, поэтому для ряда практически значимых видов необходима разработка специальных методов для массового размножения их сортов и получения стерильного материала для нужд человека [5, с. 8].

Одним из путей решения данной проблемы может быть использование биотехнологических методов, позволяющих провести клональное микроразмножение для быстрого и массового растиражирования новых сортов растений с нужными качествами в культуре *in vitro* [1, с. 8].

Одним из перспективных и хозяйственно ценных для человека видов является спилантес огородный (*Acmella oleracea* (L.) R.K. Jansen) – новое садово-огородное декоративное, пищевое и ценное лекарственное растение, ряд сортов которого нуждаются в быстром и массовом размножении.

Родиной спилантеса огородного называют Бразилию, однако он также распространен и в тропических, и в субтропических районах. С 2005 года спилантес начал культивироваться в России [4, с. 322].

Растение активно применяется в косметологии и медицине. Поскольку в составе растения содержится спилантол, его используют в качестве: анальгетика, анестетика, противовоспалительного и противогрибкового средства, а также как природный ботокс [2, с. 273].

Спилантес огородный недавно начали включать в состав косметических средств. Считается, что культура улучшает выработку коллагена, что способствует омолаживанию кожи и разглаживанию морщин [2, с. 273].

Также растение используется в кулинарии как салатное растение из-за острого и пикантного вкуса листьев [4, с. 322].

В настоящее время выяснено, что в условиях культуры некоторые сорта спилантеса медленно размножаются обычными способами: семена имеют невысокую всхожесть, проростки поражаются грибковыми и вирусными заболеваниями [4, с. 322]. Из-за всех названных негативных особенностей для размножения спилантеса как перспективный может быть использован метод микрорационального размножения.

Новизна проведенных исследований заключается в том, что до настоящего времени из-за недавнего введения в культуру в России спилантеса огородного до сих пор не было попыток провести его клональное микроразмножение, поэтому

полученные нами результаты по его клонированию – первый шаг по размножению этого вида *in vitro*.

Именно поэтому главной целью нашего исследования было изучение возможности микрклонального размножения *in vitro* спилантеса огородного (*Acemella oleracea* (L.) R.K. Jansen) и его сортов для практических нужд. Для этого были выяснены возможности микрклонального размножения спилантеса при помощи разных видов эксплантов в условиях *in vitro*, и был разработан и оптимизирован протокол культивирования и непрерывного получения регенерантов спилантеса огородного в стерильных условиях.

Опыт микрклонального размножения и культивирования растений прошлых лет [3, с. 52] помог подобрать условия культивирования и выращивания эксплантов *Acemella oleracea* (L.) R.K. Jansen на твердых агаризованных средах.

Для отработки протокола микрклонального размножения *in vitro* простерилизованные семена спилантеса огородного были высажены в условиях климатической камеры при температуре +26°C и фотопериоде 16 часов свет + 8 часов темнота. Семена культивировались на твердой агаризованной питательной безгормональной среде Мурасиге-Скуга (MS).

Наблюдения показали, что высаженные семена спилантеса в среднем прорастают через 5 суток при +26°C на свету и всхожесть семян, высаженных в разные сроки, изменяется от 71,4% до 92,0%. В среднем всхожесть составила 81,7%, что показывает хорошую возможность выращивания и размножения этого хозяйственно значимого вида в условиях *in vitro*.

Уже через две недели выросшие на безгормональной среде Мурасиге-Скуга молодые растения спилантеса имели хорошо развитую корневую систему и побеги с тремя узлами настоящих листьев.

Далее нами проводился посев листовых и побеговых эксплантов, взятых от выросших сеянцев на питательную среду с гормонами ауксинами и цитокинами для каллусообразования (2 пассаж). У спилантеса, как показали наблюдения, была отмечена высокая регенерационная способность, что приводило к об-

разованию полноценных каллусов уже в среднем через 16 суток у большинства побеговых эксплантов, и к концу 24 суток – у листовых эксплантов.

Листовые и побеговые экспланты, взятые от выросших сеянцев спилантеса огородного выращивались на полной гормональной среде Мурасиге-Скуга (МС) при следующих концентрациях фитогормонов: 1 мг/л кинетина и 0,5 мг/л ИУК.

Изучение формирующихся каллусов спилантеса показало, что каллусы образуются средней плотности с выраженными отдельными очагами меристематической активности, часто при разрастании каллуса одновременно идет морфогенез и дифференцируются молодые органы спилантеса: почки, из которых затем развиваются побеги с листьями и корни, которые затем начинают активно ветвиться.

Дальнейшее развитие молодых растений спилантеса из каллусов происходило благодаря тотипотентности, и при подборе оптимальных условий и подходящей питательной гормональной среды из каллусов и их участков формировался новый растительный организм.

Наблюдения за эксплантами показали, что после посадки на полную гормональную агаризованную среду Мурасиге-Скуга (МС) приживается в среднем 75 – 80% побеговых эксплантов, на которых уже через 8–12 суток начинается формирование и рост молодых каллусов и придаточных корней (1 этап каллусогенеза). Образующийся каллус белого или беловато-розоватого цвета, плотный.

Далее идет активное линейное разрастание каллуса на побеговых эксплантах (2 этап каллусогенеза). Рост каллуса шёл в течение месяца. Одновременно в это же время продолжали развиваться побеги и придаточные корни, т.е. происходил органогенез.

На этом этапе уже можно было пересаживать спилантес в почвогрунт и начинать приучать к природным условиям, если ставилась цель его быстрого размножения, как это рекомендуется в ряде общепринятых методик [6, с. 39].

Если спилантес нужен для получения ценных веществ его можно выращивать *in vitro* и дальше для увеличения вегетативной массы.

Таким образом, подводя итог, следует отметить, что развитие из побеговых эксплантов молодых растений спилантеса огородного с хорошо развитыми побегами, придаточными корнями и каллусами происходит быстро, и на 61 – 64 сутки новое растение готово к высадке в почвогрунт или для получения из него лекарственных веществ.

При работе с листовыми эксплантами после отделения их от маточного растения проводилась их посадка и выращивание на полной гормональной среде Мурасиге-Скуга (МС) с кинетином в концентрации 1 мг/л и индалилуксусной кислотой (ИУК) в концентрации 0,5 мг/л для индуцирования каллусогенеза (2 пассаж).

После посадки приживается в среднем 68–75% листовых эксплантов, на которых уже через 8 – 14 суток начинается формирование и рост молодых каллусов (1 этап каллусогенеза). Образующийся на срезах листа каллус очень тонкий, белого цвета, слабо заметный.

Стадия разрастания каллуса и побеговый, и корневой органогенез наступает на 55 – 62 сутки культивирования.

Каллусы спилантеса на листовых эксплантах разрастаются и увеличиваются в объеме, каллус становится на некоторых участках более рыхлым, из придаточных почек начинают расти побеги, а также развиваются крупные придаточные корни.

На этом этапе заканчивается микроклональное размножение спилантеса из листовых эксплантов и можно начинать приучать молодые растения к условиям теплицы с повышенной влажностью воздуха.

Таким образом, следует отметить, что развитие из листовых эксплантов молодых растений спилантеса огородного с побегами, придаточными корнями и каллусами происходит быстро, и на 60–62 сутки новое растение-микроклон готово к высадке в теплицу с повышенной влажностью воздуха.

Использование каллусных эксплантов показало, что выращивание спилантеса огородного методами клонального микроразмножения *in vitro* перспективно и повышает возможности его использования в медицинской и косметической промышленности для получения лекарственных веществ и большого количества молодых стерильных растений.

Список литературы

1. Дитченко Т.И. Культура клеток, тканей и органов растений [Текст] / Т.И. Дитченко. – Минск: БГУ, 2007. – 102 с.
2. Кизима Г.А. Полная энциклопедия умного садовода и огородника [Текст] / Г.А. Кизима. – М.: АСТ, 2010. – 638 с.
3. Масленников А.В. Современное состояние популяций редкого охраняемого ресурсно-значимого вида – валерианы русской (*Valeriana rossica* P.Smirn.) и возможности её клонального микроразмножения *in vitro* [Текст] / А.В. Масленников, Л.А. Масленникова // Природа Симбирского Поволжья: сб. научн. трудов. Вып. 18. – Ульяновск, 2017. – С. 50–54.
4. Мэтьюз Дж. Ваш сад: полная иллюстрированная энциклопедия [Текст] / Дж. Мэтьюз, Р. Бёрд, Э. Миколайски. – М.: Эксмо, 2011. – 640 с.
5. Сельскохозяйственная биотехнология [Текст] / под ред. В.С. Шевелухи. – 2-е издание. – М., 2003. – 416 с.
6. Тимофеева О.А. Клональное микроразмножение растений [Текст] / О.А. Тимофеева, Ю.Ю. Невмержицкая. – Казань: Казанский университет, 2012. – 56 с.