

DOI:10.26104/NNTIK.2023.72.13.008

Нурдинова Ж.Н., Асанакунов Б.А.

NEPETA CATARIA ТКАНИНЫН КУЛЬТУРАСЫ БААЛУУ ДАРЫ
ӨСҮМДҮКТӨРДҮН КӨБӨЙҮҮ ЖОЛУ КАТАРЫ

Нурдинова Ж.Н., Асанакунов Б.А.

КУЛЬТУРА ТКАНЕЙ NEPETA CATARIA КАК СПОСОБ
РАЗМНОЖЕНИЯ ЦЕННЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ

Zh. Nurdinova, B. Asanakunov

TISSUE CULTURE OF NEPETA CATARIA AS A WAY TO
PROPAGATE VALUABLE MEDICINAL PLANTS

УДК: 573:582.6(575.2) (04)

Бул изилдөө *Nepeta cataria* L. (мышык кесеги) өсүмдүктөрүн баалуу дарылык өсүмдүк катары микрөкөбөйтүү үчүн оптималдуу шарттарды тандоо максатында жүргүзүлгөн. Үрөндөр натрий гипохлоритин колдонуу менен бети стерилденген жана өнүгүү үчүн *in vitro* өсүүчү чөйрөдө инкубацияланган. Маданияттар $22 \pm 4^\circ\text{C}$ температурада 16 сааттык фотопериод менен сакталган. Азыктандыруучу чөйрө катары Мурашиге Ског (MS) чөйрөсү тандалып алынган. *In vitro* шартында өстүрүлгөн үрөндөрдүн өнүгүү 62,5% түздү. NAA жана BAP сыяктуу фитогормондордун ар кандай концентрациясы бар MS чөйрөсүндө колтук бүчүрлөрүн микрөкөбөйтүү жүргүзүлгөн. Цитокинин 6-бензиламинопуридин (БА) жана ауксиндин ар кандай концентрациясынын (0,5; 1,0; 1,5 мг/л) таасири изилденген. Өсүмдүктөрдү натыйжалуу өстүрүү үчүн фитогормондордун эң оптималдуу комбинациялары NAA 1,0 мг/л жана БАП 1,0 мг/л, ошондой эле NAA 1,5 мг/л жана BAP 0,5 мг/л болгон. BAP жогорку концентрациясы бар вариант башка варианттарга салыштырмалуу эң аз жашоо көрсөткүчүн жана бүчүрлөрдүн санын көрсөттү.

Негизги сөздөр: микрөкөбөйтүү, *in vitro*, дары өсүмдүк, *Nepeta cataria* L, мышык жалбырак, аксиллярдык бүчүрлөрү, Мурашиге – Скуга чөйрөсү, өсүү регуляторлору.

Настоящее исследование проведено с целью подбора оптимальных условий для микроразмножения растений *Nepeta cataria* L. (котовник кошачий), как ценного лекарственного растения. Семена подвергали поверхностной стерилизации с использованием гипохлорита натрия и инкубировали на питательной среде *in vitro* для прорастания. Культуры содержали при температуре $22 \pm 4^\circ\text{C}$ при 16-часовом световом периоде. В качестве питательной среды была выбрана среда Мурашиге – Скуга (MS). Всхожесть семян, выращенных в культуре *in vitro*, составила 62,5%. Проведено микроразмножение пазушных побегов также на среде MS с различными концентрациями таких фитогормонов, как НУК и БАП. Изучено действие различных концентраций (0,5 1,0; 1,5 мг/л) цитокинина 6-бензиламинопурина (БС) и ауксина. Наиболее оптимальными сочетаниями фитогормонов для эффективного выращивания растения были соотношения НУК 1,0 мг/л и БАП 1,0 мг/л, а также НУК 1,5 мг/л и БАП 0,5 мг/л. Вариант с более высокой концентрацией БАП показал наименьшую выживаемость и количество побегов в сравнении с другими вариантами.

Ключевые слова: микроразмножение, *in vitro*, лекарственное растение, *Nepeta cataria* L., котовник кошачий, пазушные побеги, питательная среда Мурашиге-Скуга, регуляторы роста.

This study was carried out in order to select the optimal conditions for the micropropagation of *Nepeta cataria* L. (cat's lump), as a valuable medicinal plant. The seeds were surface sterilized using sodium hypochlorite and incubated on *in vitro* growth medium for germination. The cultures were kept at a temperature of $22 \pm 4^\circ\text{C}$ with a 16-hour light period. Murashige-Skoog (MS) medium was chosen as a nutrient medium. Germination of seeds

grown in culture *in vitro* was 62.5%. Conducted micropropagation of axillary shoots, also on MS medium with various concentrations of such phytohormones such as NAA and BAP. The effect of various concentrations (0.5 1.0; 1.5 mg/l) of cytokinin 6-benzylaminopurine (BA) and auxin was studied. The most optimal combinations of phytohormones for effective plant cultivation were the ratios of NAA 1.0 mg/l and BAP 1.0 mg/l, as well as NAA 1.5 mg/l and BAP 0.5 mg/l. The variant with a higher concentration of BAP showed the lowest survival rate and the number of shoots in comparison with other variants.

Key words: micropropagation, *in vitro*, medicinal plant, *Nepeta cataria* L, catnip, axillary shoots, Murashige – Skoog medium, growth regulators.

Актуальность темы. В связи с повышенным интересом к биологически активным ингредиентам, использование растительных источников растет день ото дня.

Экстракты растений и эфирные масла представляют собой сложные смеси летучих и природных биоактивных соединений, проявляющих антиоксидантную, противовоспалительную, противомикробную и противогрибковую активность [1]. Они используются в фармацевтической, пищевой, косметической и биомедицинской промышленности. Кроме того, было показано, что эти соединения обладают противораковой активностью и способностью уменьшать побочные эффекты обычно используемых химиотерапевтических препаратов. Создание альтернативных терапевтических методов, основанных на лекарственных травах, приводит к увеличению потребления природных ресурсов лекарственных растений [2]. Интенсификация сбора лекарственных растений из их естественной среды обитания увеличивает угнетение природных популяций растений, в особенности эндемичных видов. Для сохранения растительного разнообразия разработаны различные методы и подходы, в том числе создание ботанических садов и питомников, выращивание в теплицах, реинтродукция в естественных местообитаниях. Одним из эффективных перспективных способов является применение методов биотехнологии для сохранения и размножения ценных лекарственных видов [3].

Цель работы. Целью данной исследовательской работы являлся подбор условий введения в культуру *in vitro* растений *Nepeta cataria* L. (Котов-

ник кошачий) с целью их дальнейшего микроразмножения.

Материалы и методы. В качестве растительного материала были использованы семена *Nepeta cataria* L. (котовник кошачий) из семейства *Lamiaceae*. В камере с ламинарным воздушным потоком семена последовательно стерилизовали с помощью 75% этилового спирта (30 с) и 5% раствора гипохлорита натрия (20 мин) и четырехкратно по 30 с промывали дистиллированной водой. Простерилизованные семена поместили для проращивания в банки с твердой средой MS без регуляторов роста [4]. Семена инкубировали в помещении для культивирования при $22 \pm 4^\circ\text{C}$ и в условиях 16 – часового фотопериода флуоресцентных 45 – мкмольных ламп с холодным белым светом и 8 – часовой темноты. Всхожесть определяли по правилам Международной ассоциации тестирования семян [5] после появления зародыша длиной не менее 2 мм. (табл. 1 и 2).

Результаты и их обсуждение. Оптимальным способом введения растений в культуру *in vitro* яв-

ляется использования семян. С этой целью проводили двухэтапную стерилизацию семян 70% раствором этилового спирта и 5% раствором гипохлорита натрия. Стерилизованные семена высаживали на питательную среду MS без фитогормонов. Результаты прорастания семян приведены в таблице 1.

Всего было посеяно 48 семян растения *N. cataria* в 6 банок с отвержденной питательной средой MS без добавления регуляторов роста, поскольку семена содержат все необходимые для прорастания нового растения метаболиты, в том числе гормоны роста. Всхожесть семян составила 62,5% (табл. 1). Снижение всхожести, вероятно, связано с качеством семян, их возрастом, а также условиями их хранения. Каждый из перечисленных факторов оказывает воздействие на снижение энергии прорастания семян [6]. Несмотря на снижение всхожести, нам удалось получить достаточное количество зрелых растений *N. cataria*, которые были пригодны для использования на следующем этапе пересадки эксплантов на питательную среду MS с добавлением фитогормонов.

Таблица 1

Прорастание семян на среде Мурасиге – Скуга

№ п/п	Число посеянных семян, шт.	Число проросших семян, шт.	Прорастание, %
1.	8	2	25,0
2.	8	3	37,5
3.	8	7	87,5
4.	8	7	87,5
5.	8	7	87,5
6.	8	4	50,0
Средняя			62,5%

Рост растений в условиях культуры тканей имеет свои особенности. Растения получают все необходимые питательные вещества и освещены достаточным количеством света. Видовые характеристики также оказывают влияние на рост растений [7]. В нашем эксперименте мы определяли скорость роста растений, проросших из семян для выяснения особенностей роста растений изучаемого вида (рис. 1, табл. 2). Высота растений различалась по повторностям на протяжении всего периода наблюдений (5 недель) и варьировала в диапазоне 2,5-8,0 мм после первой недели и 17,0-35,0 мм после пятой недели роста. На протяжении 5 недель растения *N. cataria* продемонстрировали хороший рост на безгормональной питательной среде MS (табл. 2).

Таблица 2

Высота проростков *N. cataria* на среде Мурасиге – Скуга, мм

№ п/п	Возраст растений, недель				
	1	2	3	4	5
1.	8	10	17	32	35
2.	6	7	10	18,5	21,5
3.	2,6	5	8,6	14,6	20,6
4.	4	5	8	13,6	16,3
5.	4,3	6,3	10,6	18,3	21,3
6.	2,5	3,6	7,5	14	17
Средняя	4,5	6,1	10,2	18,5	21,9

В росте растений наблюдался определенный тренд. График скорости роста показывает, что рост растений был довольно стабильным с первой до третьей недели, после чего происходит ускорение прироста (рис. 1). Наибольшее ускорение наблюдается на третьей и четвертой неделях, а начиная с пятой недели рост замедлялся. Это может быть связано с развитием корневой системы и адаптацией растений к условиям *in vitro* к 3-4 неделям и истощением питательной среды к более позднему сроку, когда растения достигли своего максимального потенциала роста и смогли извлечь значительную долю доступного количества питательных веществ из среды [8,9].

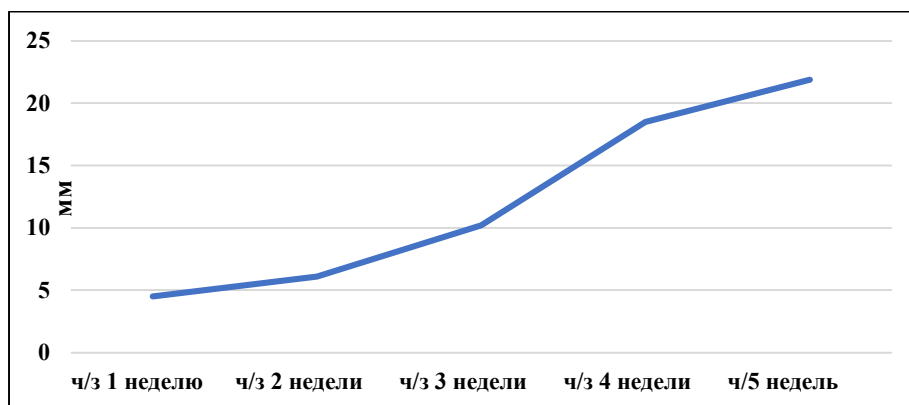


Рис. 1. График роста растений *N. cataria*, полученных из семян

Растения одного вида обладают широкой изменчивостью. С целью выяснения неоднородности растений *N. cataria* подсчитывалось количество стеблей и корней на растении (табл. 3).

Таблица 3

Высота проростков, количество стеблей и корней растений *N. cataria* на среде Мурасиге-Скуга

№ п/п	Рост растений, мм (1)	Кол-во стеблей, шт. (2)	Кол-во корней, шт. (3)
1.	35	2,5	7
2.	21,5	3	3
3.	20,6	2,2	2,5
4.	16,3	1,2	2,2
5.	21,3	1,4	2,7
6.	17	1,7	3,2
Коэффициент корреляции		$r_{1,2}=0,52$	$r_{1,3}=0,94$ $r_{2,3}=0,43$

Как видно из таблицы 3, корреляция между ростом растений и количеством стеблей была невысокой и составила 0,52, а корреляция между количеством стеблей и количеством корней была еще ниже – 0,43. Высокая корреляция (0,94) наблюдалась между ростом растений и количеством корней. Это свидетельствует о том, что корни больше способствуют росту растений, а не формированию стеблей.

Регуляторы роста играют немаловажную роль во многих аспектах роста и развития растений. Взаимодействие между ними особенно важно для контро-

ля нескольких процессов развития, таких как формирование и поддержание меристем, которые необходимы для всего тела растения. Соотношение фитогормонов может иметь различный эффект на рост растений в зависимости от концентрации и соотношения каждого фитогормона [10].

Нами были испытаны различные комбинации концентраций ауксина альфа-нафтилуксунной кислоты (НУК) и цитокинина 6-бензиламинопурина (БАП) на рост и пролиферацию тканей полученных *in vitro* растений *N. cataria* (табл. 4).

Таблица 4

Высота эксплантов *N. cataria* на питательной среде с различными концентрациями НУК и БАП, мм

№ п/п	Концентрация гормонов	Возраст эксплантов, недель		
		1	2	3
1.	НУК 0,5 мг/л + БАП 1,5 мг/л	2,7	3	3,8
2.	НУК 1,0 мг/л + БАП 1,0 мг/л	3,7	4	5,5
3.	НУК 1,5 мг/л + БАП 0,5 мг/л	5	5,1	5,8

Из 37 посаженных эксплантов растения *N. cataria* выжили 28 эксплантов (75%). Довольно высокий процент выживаемости указывает на то, что данное растение является достаточно устойчивым к изменениям концентраций фитогормонов в питательной среде.

Высота эксплантов зависела от концентраций фитогормонов НУК и БАП в питательной среде. Наибольшая высота эксплантов (5,8 мм через 3 недели) наблюдалась в варианте №3 с высоким содержанием НУК (1,5 мг/л НУК + 0,5 мг/л БАП). В варианте №2 с одинаковым содержанием НУК и БАП (1,0

мг/л), высота эксплантов также оказалась достаточно высокой и составила 5,5 мм через 3 недели.

В варианте №1 с более высокой концентрацией БАП, чем НУК, выживаемость (46,6%) и количество приспособившихся эксплантов (7 растений) были ниже, чем в вариантах №2 и №3 (табл. 5). В варианте №2 с равным соотношением НУК и БАП наблюдалась высокая выживаемость (84,6%) и увеличенному количеству побегов (11 побегов). В варианте №3 концентрация НУК была выше, чем БАП, что также привело к высокой выживаемости (68,4%) и количеству побегов (13 побегов).

Таблица 5

Влияние фитогормонов на прорастание эксплантов

№	Регуляторы роста, мг/л	Кол-во эксплантов, шт.	Кол-во побегов, шт.	Прорастание, %
1.	0,5 НУК+ 1,5 БАП	15	7	46,6
2.	1,0 НУК+ 1,0 БАП	13	11	84,6
3.	1,5 НУК+ 0,5 БАП	19	13	68,4

Полученные результаты позволяют сделать вывод, что концентрации фитогормонов влияют на рост растений, и их оптимальное соотношение может способствовать наибольшему росту. В наших экспериментах, наибольшая высота была достигнута в варианте №3, где содержание НУК было выше, чем БАП, а наименьшая высота была в варианте №1, где концентрация БАП была выше, чем НУК. Таким образом, соотношение фитогормонов играет важную роль в росте и развитии эксплантов растения *N. cataria*, причем оптимальный состав может отличаться, в зависимости от конкретных условий эксперимента и целей исследования.

Заключение. В нашем исследовании успешно получена культура *in vitro* растений *N. cataria* и определены оптимальные условия их микроразмножения. Наиболее благоприятными для роста эксплантов оказались варианты с соотношением НУК 1,5 мг/л и БАП 0,5 мг/л, которые показали хороший и стабильный рост, выживаемость и количество побегов у эксплантов на протяжении всего периода. Исследование может быть полезным для оптимизации методов выращивания *N. cataria* и других растений для дальней-

шего изучения и применения в экологии, сельском хозяйстве и других областях.

Литература:

- Mancianti F., Ebani V.V. Biological Activity of Essential Oils. *Molecules*. 2020; 25: 678. doi: 10.3390/molecules25030678
- Valgimigli L. Essential oils: An overview on origins, chemistry, properties and uses. New York, NY, USA: 2012. pp. 1-24.
- Nalawade S.M., Sagare A.P., et al. Studies on tissue culture of Chinese medicinal plant resources. *Bot Bull Acad Sin*. 2003; 44: 79-98.)
- Murashige T. & Skoog F. 1962 A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures *Physiol. Plant*. 15 473 49
- International Seed Testing Association 1999 International rules for seed testing *Seed Sci. Technol.* 27 suppl 333
- Baskin C. C., & Baskin, J. M. (2014). *Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination*. Elsevier
- Гордеева Т.А. Развитие и рост растений при культуре тканей / Т.А. Гордеева. – Воронеж : Изд-во ВГУ, 2010. – 64 с.
- Морозова Е.Ф. Культура тканей растений: учебник для вузов / Е.Ф. Морозова. – М.: Высшая школа, 2010. – 256 с.
- Ширяева Т.И. Питательная среда для культуры тканей растений / Т.И. Ширяева // *Агроном*. – 2011. – № 1. – С. 19-21
- Davies, P. J. (ed.) (2010). *Plant hormones: Biosynthesis, signal transduction, action*. Dordrecht, Netherlands: Springer.