

постнатального онтогенеза / А. И. Кузнецов, Т. И. Бежинарь // Экологические проблемы сельского хозяйства и производства качественной продукции : тезисы докладов Всероссийской конференции, посвященной 20-летию Уральского филиала ВНИИВСТЭ, 14-16 апреля 1999 г. / Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – Москва ; Челябинск, 1999. – С. 98-100. 9. Каравацкий, И. А. Неспецифические факторы естественной резистентности телок / И. А. Каравацкий, Т. И. Бежинарь // Проблемы и пути развития ветеринарной и зоотехнической наук : материалы Международной научно-практической конференции обучающихся, аспирантов и молодых ученых, посвященной памяти заслуженного деятеля науки, доктора ветеринарных наук, профессора кафедры «Болезни животных и ветеринарно-санитарная экспертиза» Колесова Александра Михайловича (14-15 апреля 2021 г.) / Саратовский государственный аграрный университет имени Н. И. Вавилова. – Саратов, 2021. – С. 448-455. 10. Бежинарь, Т. Общие показатели естественной резистентности крупного рогатого скота / Т. Бежинарь, Н. Пунина // Ветеринария сельскохозяйственных животных. – 2015. – № 5. – С. 16-17. 11. Бежинарь, Т. И. Гуморальные факторы защиты организма коров черно-пестрой породы / Т. И. Бежинарь, Н. Р. Бежинарь // Наука. – Костанай, 2014. – № S4-1. – С. 28-29.

УДК 621.314.13: 633.68

МИКРОКЛОНАЛЬНОЕ РАЗМНОЖЕНИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ

Султонова К.Р., Азаматов Ш.У.

Самаркандский государственный университет ветеринарной медицины животноводства и биотехнологии», г. Самарканд, Республика Узбекистан

*Свободные от патогена проростки лекарственного растения *Lagochilus inebrians* получены на основе микроклональной репродукции *in vitro*. Установлено, что *in vitro* пролиферация каллусной ткани *Lagochilus inebrians* оптимально осуществляется при сочетании БАП (1 мг/л) + НУК (1 мг/л) в питательной среде МС. В процессе микроклонирования питательные среды MS и WPM анализировались на сравнительной основе. **Ключевые слова:** *Lagochilus inebrians*, *in vitro*, антисептик, эксплантат, микроклональная репродукция.*

MICROCLONAL PROPAGATION OF MEDICINAL PLANTS

Sultonova K.R., Azamatov Sh.U.

Pathogen-free seedlings of the medicinal plant Lagochilus inebrians were obtained based on microclonal reproduction in vitro. It has been established that in vitro proliferation of callus tissue of Lagochilus inebrians is optimally carried out with a combination of BAP (1 mg/l) + NAA (1 mg/l) in the MS nutrient medium. During the microcloning process, MS and WPM culture media were analyzed on a comparative basis. Key words: Lagochilus inebrians, in vitro, antiseptic, explant, micro-clonal reproduction.

Введение. В мире проводятся исследования по изучению биологических свойств перспективных лекарственных растений, выявление их значимости в медицине, их культивирование и размножение, создание сырьевой базы для фармакологической промышленности на основе природных источников. Особое внимание здесь уделяется биотехнологическим научным исследованиям, интродукции (*in situ*) редких и перспективных лекарственных растений, определению морфологической и экологической приспособленности к выбранным почвенно-климатическим условиям, созданию плантаций на основе микроклонального (*in vitro*) размножения и получению саженцев, свободных от патогенов.

В нашей стране особое внимание уделяется созданию природно-сырьевой базы фармацевтической промышленности на основе сохранения и развития генетических ресурсов лекарственных растений. В связи с этим начата инвентаризация полезных видов лекарственных растений, ресурсная оценка и микроклональное размножение перспективных видов на основе биотехнологических методов. В стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан определены задачи «дальнейшего развития фармацевтической промышленности, обеспечения населения и медицинских учреждений доступными, качественными лекарственными средствами». Исходя из этих задач, задача рекомендаций по размножению и производству вида *L. inebrians*, приобретают важное научно-практическое значение.

Материалы и методы исследований. Из лекарственных растений в качестве был выбран вид *Lagochilus inebrians* из рода *Lagochilus*. В исследованиях используются методы микроклонизации, стерилизации, транспирации, спектрофотометрии, ВЭЖХ (высокоэффективная жидкостная хроматография), физиологии и биохимии растений и при обработке полученных результатов использован программный пакет SPSS-17.

Результаты исследований. Важным аспектом микроклонального размножения растений является выбор первичного экспланта. При этом учитывается как морфогенетический потенциал, так и наличие выбранного

источника экспланта. Для получения асептических культур *L.inebrians* использовались апикальные меристиматические или корневые ткани, что объясняется их высокой регенеративной активностью. При этом в стеблевых культурах растений наиболее характерным является процесс органогенеза, связанный с образованием корневой системы.

Исследования по введению тканей побегов *in vitro* в культуру в качестве первичных эксплантатов проводились с *L.inebrians*, выращенными в теплице в изолированных условиях. Высокий уровень загрязнения подземных органов привел к необходимости применения жестких режимов стерилизации. В процессе работы был использован раствор с добавлением 70% этанола (30 сек), 0,1% Hg₂Cl₂ и Tween 80 (30 мин) и промыт стерильной водой. При этом показатель неинфицированных эксплантов колебался в пределах 87-96%.

При выращивании в теплице в утепленных условиях *L.inebrians* первые изменения поверхности побегов и незначительное разрастание отрастающих тканей отмечаются через 15-17 дней, в полевых условиях – через 51-56 дней. В питательной среде возобновление бутонов продолжалось в среднем 12-17 дней, начиная с появления ростка на поверхности через сутки после пересадки и заканчивая формированием первичных вегетативных органов. На начальном этапе культур *in vitro* развитие каллусной ткани *L.inebrians* не происходило. Рост почек фиксировали на участке отслоения тканей над поверхностью питательной среды (рисунок).

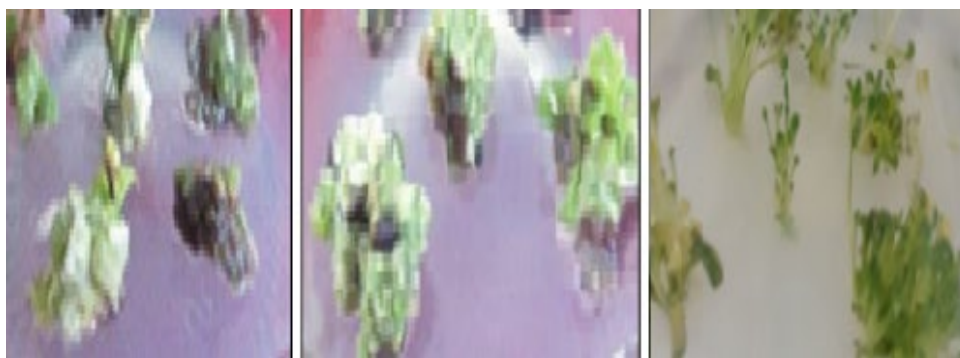


Рисунок – Регенерация почек *Lagochilus inebrians* на поверхности первичного экспланта в среде БДС, заполненной 5,0 мкм БАП и 2,0 мкм НАА, созревание 47 дней

Питательная среда БДС и Б₅ микроростков *L.inebrians* характеризуется сходством скорости образования микросистем инбридинга. При этом в среде МС отмечается значительное снижение. В среде БДС без контрольного гормона (регенерация-42,7%, количество побегов 4,1±0,2 шт./экв.) в течение длительного периода выращивания (два года) наблюдались высокие темпы роста и развития побегов. Это можно объяснить накоплением регуляторов роста, применяемых на начальной стадии развития *in vitro*.

Добавление в питательную среду БДС регуляторов роста 5,0 мкм ВАР и 2,0 мкм НАА привело к образованию дополнительных побегов на 12-15-й день выращивания, в то время как в питательной среде БДС без гормонов этот период составлял 22-25 дней. Такое сочетание регуляторов роста обеспечивало активную регенерацию: среднее число побегов в каждом экспланте составляло $4,6 \pm 0,4$, частота регенерации-56,3%. Высокие показатели роста и развития также наблюдались в питательных средах БДС с добавлением 10,0 мкм ВАР и 2,0 мкм НАА. При этом степень регенерации составила 66,2%, а на каждом экспланте образовалось $4,0 \pm 0,8$ побега.

Применение низких концентраций ВАР, кинетина и TDZ(0,1 и 0,5 мкм) приводило к образованию желтого, морфогенного каллуса независимо от минерального состава среды. При этом частота образования морфогенной мозоли не превышала 38,0%. Образование побегов на поверхности каллуса наблюдалось только после 5 недель выращивания, что наблюдалось значительно позже, чем в среде с добавлением цитокининов и ауксинов. В дальнейшем из этого вышло 28,0% микро-побегов, т. е. продолжился непрямой органогенез. Образование микротрубочек хорошо проявилось в питательной среде БДС с добавлением 0,5 мкм ТДЗ.

Хотя дисперсионный анализ не выявил значительного влияния факторов окружающей среды на количество образующихся микроядер, было обнаружено, что добавление 5,0 мкм ВАР и 2,0 мкм НАА в питательную среду БДС ускоряет регенерацию почти вдвое по сравнению с контролем и средой, в которую добавляются только цитокинины.

При исследовании минерального состава питательной среды (Б₅ и БДС) *L.inebrians* установлено влияние почек инбридинга на регенерационную активность (табл.1). Одновременно анализировалось влияние регуляторов роста на количество формирующихся побегов. Более эффективными оказались более низкие концентрации ВАР и ТДЗ (0,1 и 0,5 мкм). Добавление 0,1 мкм БАП в среду по рецепту Б₅ приводит к разрастанию отслаивающейся ткани и образованию на ее поверхности наибольшего количества отслаивающихся тканей с частотой 56,5% ($5,0 \pm 1,5$ шт/экз.). Это позволило считать среду оптимальной.

При культивировании *Lagochilus inebrians* в этой питательной среде отмечается образование желто-зеленого морфогенного каллуса (37%), длительное развитие которого (более 40 дней) привело к образованию микротрубочек. Однако частота регенерации побегов на поверхности морфогенного каллуса не превышала 32%. Поэтому в этом средстве была отмечена как прямая, так и косвенная регенерация.

Замещение ауксина с НАА на ИАА и минерального основания и с Б₅ на БДС привело к увеличению частоты образования побегов до 57,9% и активации непрямого гомогенеза и образованию в среднем $2,8 \pm 0,9$ ткани на экспланте (см. табл.1).

При этом при сравнении всех вариантов питательной среды установлено, что частота обновления тканей побегов на минеральной основе

Б₅ выше, более эффективно использование сред, содержащих цитокинины, наряду с ауксинами. Также подтвердило комплексное влияние минеральной основы и регуляторов роста на количество формирующихся побегов *de novo* (см. таблицу).

Таблица – Влияние минерального состава питательной среды и регуляторов роста на регенерацию почек *Lagochilus inebrians* в условиях *in vitro*

Регуляторы роста, мкм	Минеральная основа			
	БДС		Б ₅	
	Частота регенерации, %	Случайные почки, штук./эксп.	Частота регенерации, %	Случайные почки, штук./эксп.
Контроль (безгормональная среда)	33,3	2,5±0,3	52,9	1,6±0,3
БАП 0,1	-	-	25,7	1,8±0,3
БАП 0,5	-	-	67,0	1,8±0,3
БАП 5,0	45,8	2,1±0,3	37,5	2,0±0,9
БАП 5,0+НУК 2,0	57,9	2,3±0,5	36,6	2,4±0,6
БАП 5,0+НУК 5,0	-	-	16,1	2,1±0,3
ТДЗ 0,1	-	-	38,5	1,5±0,3
ТДЗ 0,5	18,2	1,8±0,5	29,0	2,3±0,3
ТДЗ 5,0	-	-	8,0	1,7±0,4
ТДЗ 5,0+НУК 2,0	-	-	78,6	2,0±0,6
Кинетин 0,5	21,4	1,6±0,5	-	-
БАП 5,0+ИУК 5,0	57,9	2,8±0,9	-	-
БАП 0,4+НУК 3,2+ИУК 2,3	-	-	80,0	2,1±0,5
Вариант	Φ		p	
Минеральная основа	0,3348		0,5636	неверный
Регуляторы роста, мкм	0,7427		0,5282	неверный
Минеральная основа и регуляторы роста, мкМ	3,0124		0,0320	надежный

Частота регенерации 80%, количество побегов 2,1±0,5 шт./экз. оптимальным было выращивание микроклонов на питательной среде Б₅ с добавлением 3,2 мкМ НАА и 2,3 мкМ ИАА и 0,4 мкМ ВАР.

Как отмечалось, в полевых условиях выращивания *L. inebrians* использование только низких концентраций (0,1 и 0,5 мкМ) цитокининов, вызывающих рост побегов в культуре, снизило активность образования побегов у растений.

Заключение. По результатам диссертационной работы на тему «Микроклональная репродукция *in vitro*, сохранение и получение безпатогенных семян растения *Lagochilus inebrians* Bunge» представлены следующие выводы:

1. Впервые морфогенез *Lagochilus inebrians* был продемонстрирован с использованием той же комбинации регуляторов роста минерального состава питательной среды, при которой в питательной среде с содержанием

Б5 наблюдался процесс гомогенеза, а в БДС -геморизогенеза.

2. Разработана оптимальная комбинация состава питательной среды Мурасиге-Скуга для повышения интенсивности процессов микроклонирования и ризогенеза/органогенеза *Lagochilus inebrians* в условиях *in vitro*.

3. В условиях *in vitro* выявлено ускорение онтогенетического развития *Lagochilus inebrians*, приспособившихся к выращиванию в лабораторных и тепличных условиях по сравнению с природными.

4. Впервые разработаны оптимальные условия биотехнологического (*in vitro*) размножения *Lagochilus inebrians*, приспособленного к выращиванию в различных условиях (природных, тепличных и лабораторных), и определены оптимальные соотношения максимальных концентраций стимулирующих фитогормонов в питательной среде.

Литература. 1. Введенский, А.И. Род *Lagochilus Bunge* – Заячья губа / А.И. Введенский // Флора Узбекистана. – Ташкент, 1961. – Т. 5. – С. 364–373. 2. Цукерваник, Т.И. Род *Lagochilus Bunge* / Т.И. Цукерваник // Определитель растений Средней Азии. Критический конспект флоры. – Ташкент, 1987. – Т. 9. – С. 119–133. 3. Султонова К. Р., Кушиев Х. Х. Микроклональное размножение *lagochilus inebrians bunge* в условиях *in vitro* // Бюллетень науки и практики. – 2022. – Т. 8. – №. 9. – С. 79-85. 4. Султонова К. Р., Кушиев Х. Х., Азаматов Ш. У. Каллусообразование растения *Lagochilus inebrians in vitro* и зависимость процесса укоренения от питательных сред // Интродукция, сохранение и использование биологического разнообразия флоры. – 2022. – С. 171-174.

УДК 633.853.494.074

ИЗМЕНЕНИЯ СТРУКТУРЫ ПЫЛЬЦЫ *APIS MELLIFERA L.* В РАЙОНАХ С ПОВЫШЕННЫМ РАДИАЦИОННЫМ ФОНОМ

Федоров Д.А., Щукин М.В., Содбоев Ц.Ц.

ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина»,
г. Москва, Российская Федерация

В настоящее время активно развивается новое направление биомониторинга - апимониторинг. Решая проблему биомониторинга, мы полагаем, что мёд является оптимальным продуктом для апимониторинга. Нами установлена возможность использования показателей морфологического строения пыльцы энтомофильных растений в мёде для индикации качества окружающей среды. **Ключевые слова:** Мёд, пыльца, пыльцевой анализ, радиация, цезий-137, радионуклид, мелиссопалинология.