

Рус. УДК: 58.085

*Влияние различных фитогормонов на мультипликацию шалфея австрийского (Salvia austriaca Jacq.)*

Васильченко Елена Витальевна, Середя Михаил Михайлович, Вардуни Татьяна Викторовна

*Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия*

*Аннотация:*

В статье рассматривается влияние таких фитогормонов как 6-бензиламинопурина, нафтилуксусная кислота и индол-3-уксусная кислота на мультипликацию шалфея австрийского (*Salvia austriaca* Jacq.) в культуре *in vitro*. Шалфей австрийский – лекарственное, эфирномасличное, медоносное и декоративное степное травянистое растение, включен в Красную книгу РО с категорией статуса редкости 2 а. Исследование проводилось на базе лаборатории клеточных и геномных технологий растений Ботанического сада ЮФУ. В качестве первичного экспланта использовались семена из коллекции Ботанического сада ЮФУ. Стерилизация и высадка всех эксплантов осуществлялась в ламинар-боксе. Для культивирования применялась среда Мурасиге-Скуга. В качестве контроля использовалась среда Мурасиге-Скуга без добавления фитогормонов. Оценка эффективности мультипликации проводилась через 21 день. Коэффициент мультипликации рассчитывался как количество новых побегов. Наибольший коэффициент мультипликации наблюдался на среде с добавлением 0,5 мг/л 6-бензиламинопурина и 0,1 мг/л нафтилуксусной кислоты. Данная концентрация фитогормонов рекомендуется для микроразмножения шалфея австрийского. Концентрация ауксинов (ИУК и НУК) 0,3 мг/л приводила к снижению эффективности мультипликации шалфея австрийского. На всех протестированных средах высота побега была приблизительно одинакова и статистически значимых отличий выявлено не было. Также при большой концентрации фитогормонов наблюдались физиологические аномалии.

*Ключевые слова:* 6-бензиламинопурина, нафтилуксусная кислота, индол-3-уксусная кислота, шалфей австрийский, *Salvia austriaca* Jacq.

**Eng.** Effect of different phytohormones on Austrian sage multiplication (*Salvia austriaca* Jacq.)

Vasilchenko Elena V., Sereda Mikhail M., Varduni Tatiana V.

*Southern Federal University, Rostov-on-Don, Russia*

*Abstract:*

The influence of phytohormones such as 6-benzylaminopurine, naphthylacetic acid and indole-3-acetic acid on the Austrian sage multiplication (*Salvia austriaca* Jacq.) in an *in vitro* culture is discussed in the paper. Austrian sage is the medicinal, essential oil, melliferous and ornamental steppe herb, included in the Red List of the

Rostov region. The study was conducted in the laboratory of cellular and genomic technologies of plants of the Botanical Garden. Seeds from the collection of the Botanical Garden of the Southern Federal University were used as the primary explant. For cultivation the Murashige and Skoog medium was used. Murashige and Skoog medium without the addition of phytohormones was used as a control. Evaluation of the multiplication efficiency was carried out after 21 days. The multiplication factor was calculated as the number of new shoots. The highest multiplication factor was observed in the medium with the addition of 0.5 mg / l of 6-benzylaminopurine and 0.1 mg / l of naphthylacetic acid. This concentration of phytohormones is recommended for micropropagation of Austrian sage. The concentration of auxins (IAA and NAA) 0.3 mg/l leads to a decrease in the efficiency of Austrian sage multiplication. The height of shoot was approximately the same and no statistically significant differences were found on all tested mediums. It should be pointed out that with a greater concentration of phytohormones physiological abnormalities was observed.

**Keywords:** 6-benzylaminopurin, naphthylacetic acid, indole-3-acetic acid, Austrian sage, *Salvia austriaca* Jacq.

## **Введение**

В настоящее время развивается новая междисциплинарная наука – биотехнология сохранения растений, основной задачей которой является дополнение существующих традиционных методов сохранения биоразнообразия *ex situ* и *in situ* современными биотехнологическими инструментами. Сохранение *ex situ* включает хранение семян, полевой генбанк или «живые» коллекции, банки *in vitro*, хранение ДНК и пыльцы [4]. Данная работа является одним из этапов разработки протокола микроразмножения и сохранения *in vitro* шалфея австрийского.

Шалфей австрийский (*Salvia austriaca* Jacq.) – лекарственное, эфирномасличное, медоносное, декоративное степное травянистое растение, в Ростовской области встречающееся в приазовских разнотравно-дерновинно-злаковых целинных степях на высококарбонатных чернозёмах, в каменистых степях на карбонатных породах, на склонах балок, а также среди низкорослых степных кустарников. Имеет узкую экологическую амплитуду, малочислен в большинстве популяций. Лимитирующими факторами распространения являются уничтожение местообитаний при хозяйственной деятельности и антропогенные нарушения среды обитания. Включен в Красную книгу РО. Категория статуса редкости 2 а. Относится к видам с сокращающейся численностью в результате изменения условий существования или разрушения местообитаний [3].

**Цель работы** – изучить влияние различных фитогормонов на мультипликацию шалфея австрийского.

Исходя из цели были поставлены следующие задачи:

1. Оценить влияние различных фитогормонов на эффективность мультипликации шалфея австрийского;
2. Предложить оптимальное сочетание фитогормонов для протокола микроразмножения шалфея австрийского.

Исследование проводилось на базе лаборатории клеточных и геномных технологий растений Ботанического сада ЮФУ.

### **Материалы и методы**

В качестве первичного экспланта использовались семена из коллекции Ботанического сада ЮФУ. Семена стерилизовались в тканевых мешочках (рис. 1) по следующей схеме: 70 % раствор этанола (30 сек.), далее обработка 20 % раствором «белизны» в течение 2,5 мин. (3 % раствор в пересчете на гипохлорит натрия) [2] и промывка стерильной дистиллированной водой (3 раза по 10 мин.). После стерилизации семена высаживались на среду Мурасиге-Скуга (МС) [1] без добавления фитогормонов.



*Рис. 1 – Подготовка семян к стерилизации*

Стерилизация и высадка всех эксплантов осуществлялась в ламинар-боксе. Подсчет стерильных и проросших семян (рис. 2) осуществлялся через 14 дней.



*Рис. 2 – Проростки шалфея австрийского на среде Мурасиге-Скуга*

Далее проростки пересаживались на среду МС с добавлением таких фитогормонов как 6-бензиламинопурин (БАП), нафтилуксусная кислота (НУК) и индол-3-уксусная кислота (ИУК). Было протестировано 9 различных сочетаний фитогормонов: только БАП (0,5 мг/л, 1 мг/л, 1,5 мг/л), комбинация 0,5 мг/л БАП и НУК (0,1 мг/л, 0,2 мг/л, 0,3 мг/л) и комбинация 0,5 мг/л БАП и ИУК (0,1 мг/л, 0,2 мг/л, 0,3 мг/л). В качестве контроля использовалась среда МС без добавления фитогормонов. Оценка эффективности мультипликации проводилась через 21 день. Коэффициент мультипликации рассчитывался как количество новых побегов.

Стерилизация сред проводилась в автоклаве при температуре 121 °С в течение 20 минут. В качестве гелеобразующего средства применялся агар-агар (7 г/л). РН сред доводилась до значения 5,8 с помощью 1 М КОН. Культуры помещались в условия 16-часового фотопериода при температуре 25 °С.

Статистическая обработка данных осуществлялась посредством дисперсионного анализа по методу one-way ANOVA, с использованием в качестве апостериорного критерия Tukey HSD test (тест Тьюки). Все данные были обработаны в программной среде STATISTICA10, и являются достоверными при уровне значимости при  $p < 0.05$ .

### **Результаты и обсуждение**

На рисунке 3 представлены значения коэффициента мультипликации шалфея австрийского на средах с разными концентрациями фитогормонов.

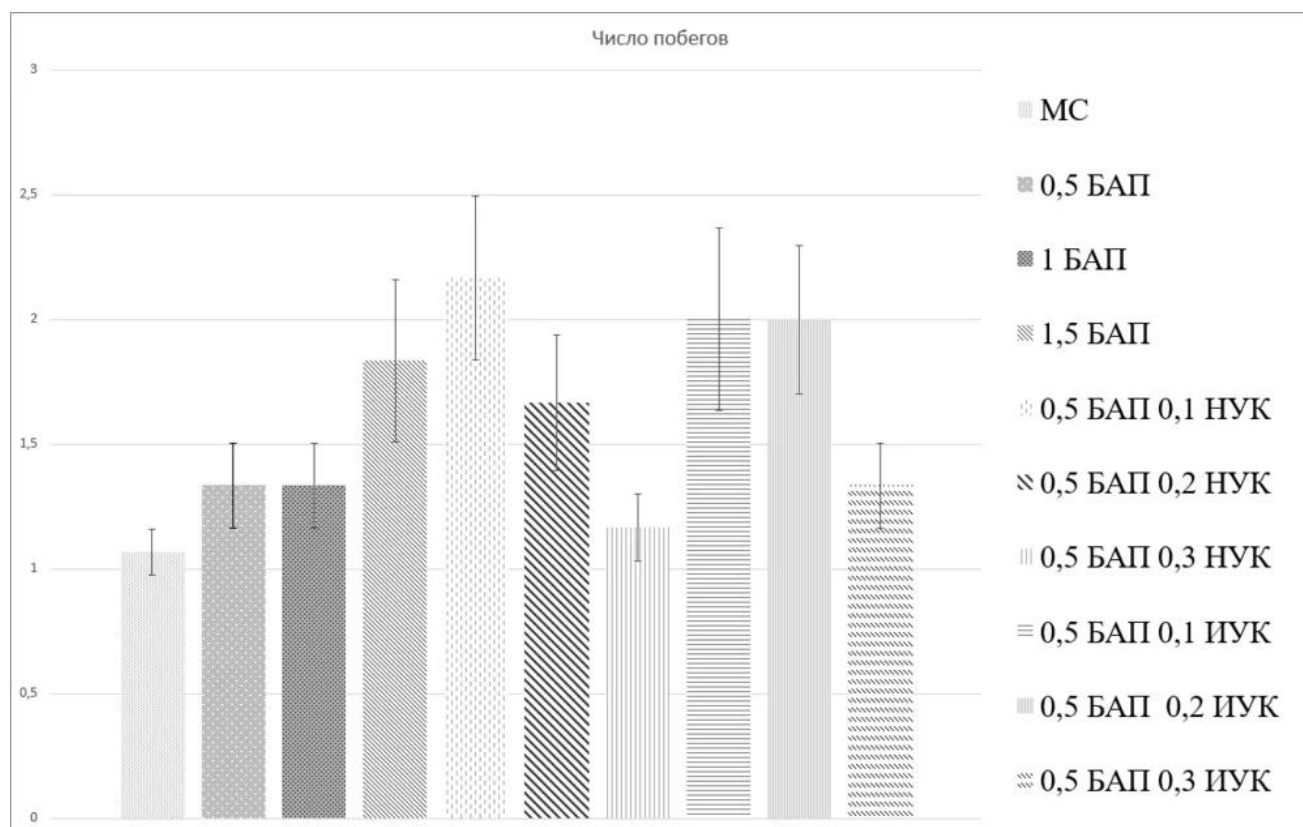


Рис. 3 – Коэффициент мультипликации шалфея австрийского на средах с разной концентрацией фитогормонов.

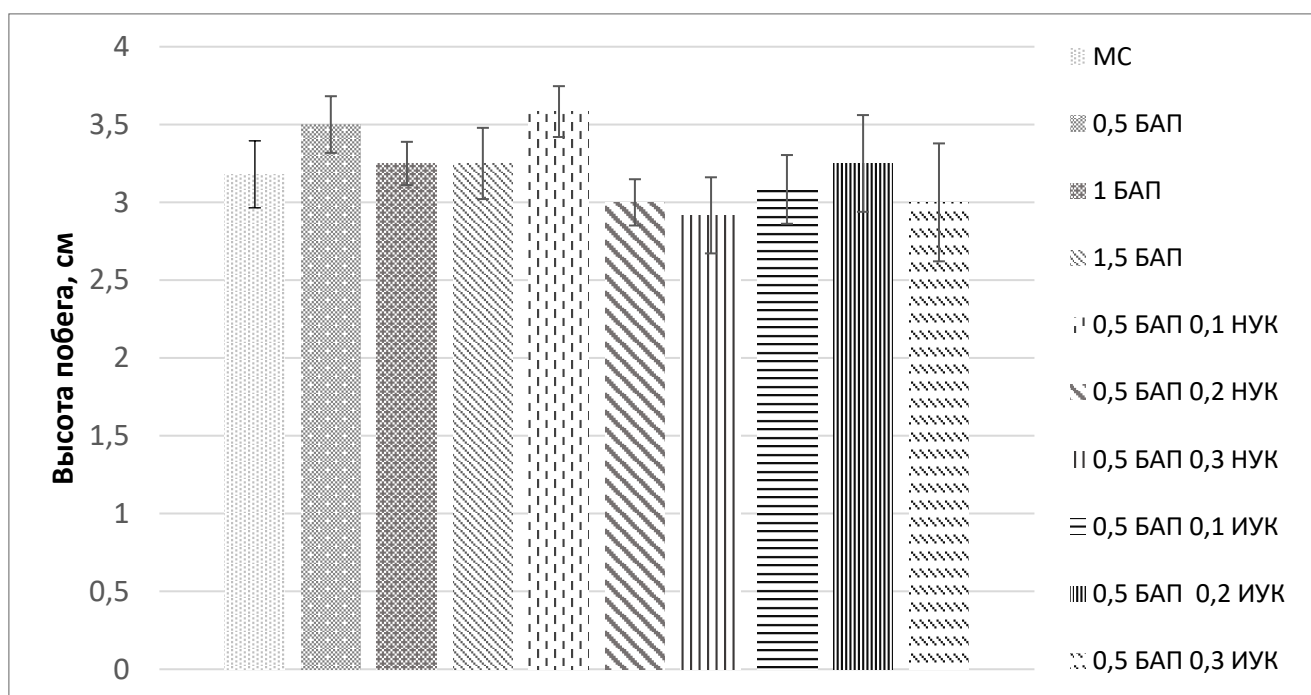
Наибольший коэффициент мультипликации наблюдался на среде с добавлением 0,5 мг/л БАП и 0,1 мг/л ИУК (2,17) (рис. 4), что статистически больше по сравнению с контролем и средой с добавлением только БАП. Концентрация ауксинов (ИУК и НУК) 0,3 мг/л приводила к снижению эффективности мультипликации шалфея австрийского.

Для других видов шалфея (*Salvia guaranitica* Benth., *Salvia blancoana* Webb & Heldr, *Salvia wagneriana* Polak) отмечено, что наибольший мультипликационный коэффициент наблюдается при культивировании узловых эксплантов на среде MC с добавлением 2.22  $\mu$ M БАП, 1 мг/л БАП, 1.33- $\mu$ M БАП соответственно [5—7].



*Рис. 4 – Шалфей австрийский на среде МС с добавлением 0,5 мг/л БАП и 0,1 мг/л ИУК*

На всех протестированных средах высота побега была приблизительно одинакова и статистически значимых отличий выявлено не было (рис. 5).



*Рис. 5 – Высота побега шалфея австрийского на средах с разной концентрацией фитогормонов.*

Для *Salvia blancoana* наибольшая длина побегов отмечается при добавлении 2 iP [1], тогда как для *Salvia guaranitica* Benth. – при добавлении кинетина [2]. Данные фитогормоны не использовались в нашем исследовании из-за более высокой их стоимости.

Стоит отметить, что при большой концентрации фитогормонов наблюдаются физиологические аномалии (рис. 6), например витрификация побегов.



Рис. 6 – Наблюдаемые физиологические аномалии

### **Заключение**

Таким образом, в данной работе было изучено влияние различных фитогормонов на мультипликацию шалфея австрийского. Наибольший коэффициент мультипликации наблюдался на среде МС с добавлением 0,5 мг/л БАП и 0,1 мг/л НУК. Данная концентрация фитогормонов рекомендуется для микроразмножения шалфея австрийского.

Следующий этап нашей работы – изучение влияния различных ауксинов на ризогенез шалфея австрийского и его дальнейшая акклиматизация к условиям закрытого и открытого грунта.

### **Список литературы:**

1. Егорова Н. А., Ставцева И. В., Митрофанова И. В. Морфогенез и клональное микроразмножение *Salvia sclarea* L. in vitro //Сборник научных трудов Государственного Никитского ботанического сада, 2011. №. 133. <http://scbook.nbgnsipro.com/download/133/4-133-2011.pdf>

2. Карпеченко К. А. и др. Введение в культуру *in vitro* шалфея клейкого (*Salvia glutinosa* L.) //Фундаментальные исследования, 2012. Т. 1. №. 5 (1). – С. 158-162 <https://fundamental-research.ru/ru/article/view?id=29866>
3. Красная книга Ростовской области: В 2 тт. / Администрация Ростовской области, Комитет по охране окружающей среды и природных ресурсов. Ростов н/Д: Малыш, 2004. Т. 2: Редкие и находящиеся под угрозой исчезновения грибы, лишайники и растения / Отв. ред. В. В. Федяева; авт.-сост. Т. И. Абрамова и др. – 333 с.
4. Новикова Т. И. Использование биотехнологических подходов для сохранения биоразнообразия растений //Растительный мир Азиатской России, 2013. №. 2. – С. 12. <http://www.izdatgeo.ru/pdf/rast/2013-2/119.pdf>
5. Cuenca S., Amo-Marco J. B. In vitro propagation of two spanish endemic species of salvia through bud proliferation //In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant, 2000. Т. 36. №. 3. – С. 225-229. <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11627-000-0042-2>
6. Echeverrigaray S., Carrer R. P., Andrade L. B. Micropropagation of *Salvia guaranitica* Benth. through axillary shoot proliferation //Brazilian Archives of Biology and Technology, 2010. Т. 53. №. 4. – С. 883-888. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-89132010000400018>
7. Ruffoni B. et al. Micropropagation of *Salvia wagneriana* Polak and hairy root cultures with rosmarinic acid production //Natural product research, 2016. Т. 30. №. 22. – С. 2538-2544. <https://doi.org/10.1080/14786419.2015.1120725>

### **Spisok literatury**

1. Egorova N. A., Stavceva I. V., Mitrofanova I. V. Morfogenez i klonal'noe mikrorazmnozhenie *Salvia sclarea* L. *in vitro* //Sbornik nauchnyh trudov Gosudarstvennogo Nikitskogo botanicheskogo sada, 2011. №. 133. <http://scbook.nbgnsipro.com/download/133/4-133-2011.pdf>
2. Karpechenko K. A. i dr. Vvedenie v kul'turu *in vitro* shalfeya klejkogo (*Salvia glutinosa* L.) //Fundamental'nye issledovaniya, 2012. Т. 1. №. 5 (1). – С. 158-162 <https://fundamental-research.ru/ru/article/view?id=29866>
3. Krasnaya kniga Rostovskoj oblasti: V 2 tt. / Administraciya Rostovskoj oblasti, Komitet po ohrane okruzhayushchej sredy i prirodnyh resursov. Ростов н/Д: Малыш, 2004. Т. 2: Redkie i nahodyashchiesya pod ugrozoy ischeznoeniya griby, lishajniki i rasteniya / Otv. red. V. V. Fedyaeva; avt.-sost. T. I. Abramova i dr. – 333 s.
4. Novikova T. I. Ispol'zovanie biotekhnologicheskikh podhodov dlya sohraneniya bioraznoobraziya rastenij //Rastitel'nyj mir Aziatskoj Rossii, 2013. №. 2. – С. 12. <http://www.izdatgeo.ru/pdf/rast/2013-2/119.pdf>
5. Cuenca S., Amo-Marco J. B. In vitro propagation of two spanish endemic species of salvia through bud proliferation //In Vitro Cellular &



- Developmental Biology-Plant, 2000. Т. 36. №. 3. – S. 225-229.  
<https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11627-000-0042-2>
6. Echeverrigaray S., Carrer R. P., Andrade L. B. Micropropagation of *Salvia guaranitica* Benth. through axillary shoot proliferation //Brazilian Archives of Biology and Technology, 2010. Т. 53. №. 4. – S. 883-888.  
<http://dx.doi.org/10.1590/S1516-89132010000400018>
7. Ruffoni B. et al. Micropropagation of *Salvia wagneriana* Polak and hairy root cultures with rosmarinic acid production //Natural product research, 2016. Т. 30. №. 22. – S. 2538-2544. <https://doi.org/10.1080/14786419.2015.1120725>