

УДК 582.473:57.086.833

КАЛЛУСНАЯ КУЛЬТУРА РОДИОЛЫ РОЗОВОЙ**М.А. Абдыкалыков**

АО МНТХ «Фитохимия», г. Караганда

В статье представлены результаты получения впервые культуры ткани родиолы розовой, влияние различных сред, фитогормонов, микро и макро элементов на процесс каллусогенеза и ростовой индекс.

Богат растительный мир Казахстана. На его территории, раскинувшейся от Каспия до Алтая и от Урала до Памира, произрастает более 200 видов ценных дикорастущих лекарственных растений. Местное население Казахстана с давних времен знало и пользовалось ими. Так, при заболевании легких, туберкулезе - казахи применяли альпийскую гречиху («кымыздык») или хориспору с желтыми цветами («мамырь»). Использовали они и ядовитый иссыкульский корень – аконит, исцеляющий многие болезни, в том числе и раковые опухоли. В качестве успокаивающего средства употребляли корни патринии – близкого родственника валерианы. На Алтае применяли настои «золотой корень» (родиола розовая), по-своему действию очень похожие на настои женьшеня и элеутерококка и даже превосходящие по эффективности тонизирующего действия оба известных препарата. В настоящее время растения, и в частности золотой корень, содержащий фенолгликозиды привлекают большое внимание исследователей. Салидрозид и другие индивидуальные вещества, выделенные из нее, не нашли пока широкого медицинского применения, она используется в виде спиртового экстракта как стимулятор и адаптоген. Непродуманные заготовки этого растения привели к тому, что запасы сырья значительно сократились. Известно, что стимулирующими свойствами обладает не только салидрозид, но и его агликонт-тирозол. Последний шире распространен в растительном мире, поэтому есть надежда, что он заменит родиолу и позволит спасти золотой корень от полного истребления. В связи с чем, получение каллусных тканей и отработка оптимальных условий их культивирования являлось первичной задачей биотехнологической разработки родиолы розовой. Были проведены работы по получению каллусных тканей родиолы розовой. Для выполнения данной задачи были проведены эксперименты по подбору оптимальных эксплантов для каллусогенеза. В качестве фитогормонов использовали цитокинин - 6-фулфуриламинопурин (ФАП) в концентрациях от 0,2 до 5 мг/л и ауксин - индолилуксусную кислоту (ИУК) от 0,2 до 5 мг/л. Для подбора эксплантов использовали сегменты корня (К), гипокотили (Г), семядольных листьев (СЛ) и настоящих листьев (Л). Экспланты для каллусогенеза высаживали в чашки Петри

диаметром 90 мм по 10-12 эксплантов в 5-ти повторностях. Для определения ростовых показателей - 5-7 трансплантатов на чашку в 7-ми повторностях. Культивирование проводили в световом шкафу при температуре 25±1°C, в течение 30 суток.

Эксперименты по подбору сред для каллусогенеза и дальнейшего культивирования каллусных тканей проводили на различных средах с добавлением в качестве фитогормонов ИУК 1 мг/л и кинетин 0,1 мг/л. Для культивирования каллусной ткани родиолы розовой из изучаемых сред: Мурасиге-Скуга (МС), Шенка Хильденбрандта (ШХ), Гамборга-Эвелга (В5), Уайта,- выбрана, как наиболее продуктивная, среда Мурасиге-Скуга (таблица 1.).

Таблица 1

Влияние различных сред на каллусогенез и ростовой индекс

Среды							
М-С		ш-х		В5		Уайта	
1	2	1	2	1	2	1	2
31±1,1	3,1±0,5	-	-	25±1,0	1,7±0,4	11±1,5	0,9±0,1

1-% каллусогенеза, 2- Ростовой индекс.

Изучение морфологических характеристик каллусных тканей, полученных из различных эксплантов показало, что оптимальными эксплантами для каллусогенеза родиолы розовой оказались сегменты семядольных листьев. Хотя экспланты из настоящих листьев также показали высокую степень каллусогенеза, полученные из них каллусы были менее жизнеспособны (таблица 2).

Таблица 2

Морфологические характеристики каллусных тканей различного происхождения.

Экспланты	Каллусогенез %	Характеристики
Корни	16±0,9	Бледно-зеленые, рыхлые
Гипокотиль	52±2,4	Зеленые, рыхлые
Семядольные листья	81±2,9	Ярко-зеленые, глобулярные
Настоящие листья	64±1,8	Зеленые, рыхлые

Следует отметить, что происхождение экспланта может отразиться на биосинтетических способностях тканевой линии. Поэтому все полученные линии будут в дальнейшем масштабированы для изучения качественного и количественного состава действующих веществ. Оптимизацию компонентов минерального питания культуры каллусных тканей родиолы розовой проводили с применением метода построения многомерных моделей на ЭВМ. На выходе

программа, кроме аналитического характера частных связей, дает их графики, оценку надежности, ранжирует факторы по силе воздействия на результат, позволяет выделить существенно влияющие факторы. Графики частных связей позволяют проводить оптимизацию процесса без применения специального математического аппарата. Описываемые эксперименты проводились по рекомендуемой матрице рационального планирования для 25 опытов. В эксперименте по оптимизации макроэлементов использовали концентрации 0,50, 100, 150 и 200 % от стандартного содержания в среде МС (таблица 3)

Таблица 3

Диапазон исследуемых концентраций макроэлементов

№ арг.	Компоненты	Диапазон концентраций мг/л				
1	KH_2PO_4	0	85	170	255	340
2	NH_4NO_3	0	800	1600	2400	3200
3	KN_3	0	950	1900	2850	3800
4	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0	220	440	660	880
5	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0	185	370	555	740

По значениям ростового индекса (РИ) - через 30 суток определяли зависимость роста каллусной массы родиолы розовой от концентрации каждого из исследуемых компонентов. Анализ изменения среднеквадратичного отклонения (СКО) исследуемых функций показал, что его средние показатели лежат в рамках допустимых изменений. Представленные данные указывают на то, что созданная модель может считаться удовлетворительной и факторы 1,2,3 соответственно KH_2PO_4 , NH_4NO_3 , KN_3 влияют более сильно на рост в культуре клеток родиолы розовой. В то же время нельзя утверждать, что CaCl_2 и MgSO_4 вообще не влияют или слабо влияют на рост каллусной ткани. Данные анализа указывают только на более сильное влияние азотного, фосфорного и калийного питания.

Таблица 4

Формуляр модели влияния фитогормонов на рост культуры каллусной ткани родиолы розовой

№ арг	№ ур-я	Коэффициент уравнения			СКО %	R	СКО ср. %
		A	B	C			
1	11	6.53E-02	4.77E-01	4.75E-01	82,7	4.9E-01	95,8
2	11	1.23E-00	-3.36E-01		62,0	7.0E-01	46,1

$D_{max} = -2.6972970E+01$ СКО % = 62,0

Коэфф. Фишера $F = 2.60115$; $F(001) = 2.76469$; $F(002) = 2.03988$

Исследования по оптимизации фитогормонального баланса планировали по схеме двухфакторного эксперимента и анализировали совместное влияние факторов на ростовой индекс (Рис.1.)

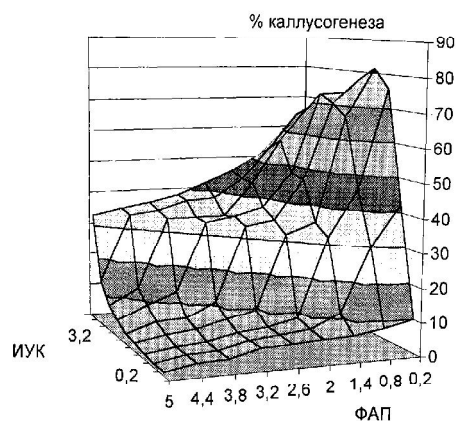


Рисунок 1 - Влияние фитогормонов на каллусогенез родиолы розовой

Подбор баланса фитогормонов показал, что оптимальной концентрацией фитогормонов для каллусогенеза эксплантов родиолы розовой являются ФАП - 0,2 мг/л и ИУК 2 мг/л - процент каллусогенеза 81,2±2,21% (Рис.1). Для максимального прироста биомассы оптимальная концентрация фитогормонов составила ФАП 2 мг/л и ИУК 2 мг/л. Следует отметить, что повышение концентрации цитокининов приводит к формированию проростков, а в сочетании с повышенными концентрациями ауксина приводит к увеличению их количества за счет активного прироста недифференцированной каллусной ткани. Таким образом, получены каллусные ткани родиолы розовой различного происхождения. Четыре тканевые линии находящихся в коллекции различаются по морфологическим показателям и жизнеспособности. Оптимизирован фитогормональный баланс для каллусогенеза и роста каллусной ткани. Достоверность полученных данных подтверждается материальными результатами экспериментов (коллекция клеточных линий, хроматограммы полученных продуктов) и абсолютной воспроизводимостью проведенных экспериментальных работ. Созданы необходимые предпосылки для изучения биосинтетических возможностей изучаемых культур в условиях "in vitro".

ВЫВОДЫ

Изучена каллусогенетическая способность различных эксплантов родиолы розовой и получены четыре каллусные линии различающиеся по морфологическим показателям и жизнеспособности.

Установлено влияние фитогормонального баланса на каллусогенез родиолы розовой - максимальный каллусогенез 81% при ФАП 0,2 мг/л и ИУК 2 мг/л, и рост каллусной ткани - РИ-9,8 при ФАП 2 мг/л и ИУК 2 мг/л.

Полученные каллусные ткани родиолы розовой могут быть использованы как альтернативные источники биологически активных веществ в биотехнологической промышленности Казахстана.

Проведенные исследования вносят существенный вклад в выяснение закономерностей физиологии клеточных популяций растений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Валиханова Г.Ж. Биотехнология растений. - Алматы: Конжык, - 1996.-271 с.
2. Бутенко Р.Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений - М.:Наука, 1964.
3. Кунаева Р.А., Сапко О.А. Манадилова А.М. Биологически активные вещества растений Казахстана//Биотехнология Теория и практика.-1997 - №3. - С. 77.
4. Smith R.J., Synthesis of taxanes in culture using pseudocallus cells. USA patent 5344775, C12 N005/00.-1994.
5. Носов А.М. Регуляция синтеза вторичных соединений в культуре растений.// В кн.: Биология культивируемых клеток и биотехнология растений.- М:Наука, 1991 , -С.5-18.
6. Toshimitsu H., Kenji G., Koji K. Production of scopadulciol by cultured tissues of *Scoparia dulcis*.//Phytochemistry.-1996.-v.41 .-№1 .-pp193-196.
7. Pestchanker L.J., Kurina M., Genlichte A.M. et al. Production of dihydroleucodin from callus lines of *Artemisia douglassiana* Besser.//Biotechnology Letters.-1989,-v. 11 .-№11 .-pp.803-806.
8. Tetsuo K., Yoshimi O., Masaki S., Yutaka E. In vitro conversion of 2,3-oxidosqualene into dammarenediol bhy *Panax ginseng* micro-somesV//Biol.and Pharm.Bull.-1997.-v.20.-№3.-pp.292-294.
9. Carreras C.R., Rodriguez J.,Silva H.J., Rossomando P., Giordano O.S., Guerreiro E. Hydroxylation of sodic grindelate by *Cunninghamella echinulata*.//Phytochemistry.-1996.-v.41 .-№2.-pp.473-475.
10. Allison A.J., Butcher D.N., Connoly J.D., Overton K.N. Paniculides A, B and C : bisabolenoid lactones from tissue cultures of *Andrographis paniculata*.//Chemical Commun.-1968.-p. 1493
11. Anastosis P., Treer I., Gilmare C, Mackie H., Overton K.N. Cyclisation of pharnesylpyrophosphate to bisabolene in tissue cultures of *Andrographis paniculata*.//Chemical Commun.-1982.-pp.267-269.

12. Pakulski G., Budzianowski J. Ilagic acid derivatives and Naphthoquinones of *Dionaea muscipula* from in vitro cultures.//Phytochemistry.-1996.-v.41.-№3.-pp.775-778.
13. Michiko Y., Koji I., Koichiro S., Kanji I. Polyacetilene glucosides in hairy root cultures of *Lobelia cardinalis*.//Phytochemistry.-1996.-v.41.-№1.-pp.183-185.
14. Xu-Hong-Xi, Zong-Fu-Quau, Wan Min, Sin-Keng-Yeou. Anti-HIV triterpene acids from *Geum japonicum*.//J.Natur.Prod.-1995.-v.59.-№7.-pp.640-645.
15. Sonia P., Casimo P., Ninzinina D.T., Naheed M. Constituents of *Ardisia japonica* and their in vitro anti-HIV activity.//J.Natur.Prod.-1996.-v,59.-№6.-pp.565-569.
16. Лабораторное руководство по хроматографии и смежным методам. Ч.1 /Под ред. О.Микеш. - М.:Мир, - 1982. - 396 с.
17. Удольская Н.Л. Введение в биометрию. - Алматы, -1976 - 72 с.

Түйіндемe

Мақалада родиола қызғылт өсімдігіне бірінші рет каллустық ұтасы алынғаны және де каллусогенез бен өсу индексіне әртүрлі ортаның, фитогормондардың, микро - макроэлементтердің әсері зерттелгені көрсетілген.

Resume

In this article showed the production at the first time of fabrics culture the pink radiols influence of different environment phitogormonics, micro and macroelements to the process of hollusagenes and growth index.

УДК 632.1

ПЕРСПЕКТИВЫ ВОЗДЕЛЫВАНИЯ КОРМОВЫХ КУЛЬТУР В УСЛОВИЯХ ПАВЛОДАРСКОЙ ОБЛАСТИ

У.Х. Альмишев, Ж.Ж. Уахитов, Ш.М. Молдахметов
Павлодарский государственный университет им. С. Торайгырова

Чтобы производство продукции животноводства, а это не только продукты питания, но и многие другие виды продукции, используемые в народном хозяйстве страны, было эффективным, чтобы продуктивный потенциал животных использовался наиболее полно, требуется иметь прочную кормовую базу. Для производства кормов используются значительная часть имеющейся в сельском хозяйстве земли. Более 70% продукции земледелия республики прямо или частично используется на кормовые цели.