

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ДЕЗИНФЕКЦИИ ЭКСПЛАНТОВ КАК ТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ЭТАПА МИКРОКЛОНАЛЬНОГО РАЗМНОЖЕНИЯ ФИАЛКИ ОБЫКНОВЕННОЙ

Н.И. Бондарева, Д.Г. Маглакелидзе

Ставропольский государственный медицинский университет, Ставрополь, Россия

В данной работе представлено исследование по влиянию типа дезинфицирующего раствора (ДР) на возможность каллусообразования фиалки обыкновенной. Так, для введения в культуру, использовали модифицированную индолилуксусной кислотой среду Мурасиге-Скуга. В качестве исследуемых ДР использовали перекись водорода и гипохлорит натрия. В результате анализа полученных данных установлено, что доступным и эффективным дезинфицирующим веществом, который препятствует контаминации образцов во время микроклонального размножения и не сопровождается гибелью клеток исследуемой культуры является 3% раствор гипохлорита натрия.

Ключевые слова: микроклональное размножение, введение в культуру, дезинфицирующие вещества, explants растений, фиалка обыкновенная.

DEVELOPMENT OF A METHODOLOGY FOR DISINFECTION OF EXPLANTS AS A TECHNOLOGICAL STAGE OF MICROCLONAL PROPAGATION OF COMMON VIOLET

N.I. Bondareva, D.G. Maglakelidze

Stavropol State Medical University, Stavropol, Russia

This paper presents a study on the influence of the type of disinfectant solution (DS) on the possibility of callus formation of common violet. Thus, for induction into culture, Murashige-Skoog medium modified with indolyacetic acid was used. Hydrogen peroxide and sodium hypochlorite were used as investigated DSs. As a result of analysis of the obtained data it was found that 3% sodium hypochlorite solution is an available and effective disinfectant, which prevents contamination of samples during microclonal propagation and is not accompanied by cell death of the culture under study.

Keywords: microclonal propagation, introduction into culture, disinfectants, plant explants, common violet.

Микроклональное размножение растений является одной из наиболее значимых и широко используемых технологий в современной биотехнологии и сельском хозяйстве. Этот метод позволяет получать большое количество генетически идентичных растений в короткие сроки, что имеет критическое значение для сохранения редких и исчезающих видов, улучшения сортовых характеристик, а также для массового производства растений, востребованных в коммерческих целях [1]. Ключевым аспектом этого процесса является подготовка исходного растительного материала — explantов. Эффективная дезинфекция explantов играет решающую роль в успешности микроклонального размножения, так как предотвращает развитие патогенных микроорганизмов, которые могут вызвать загрязнение культур и снизить выход здоровых растений.

Процесс дезинфекции explantов представляет собой комплекс процедур, направленных на уничтожение патогенов и сохранение стерильности растительных тканей. Важно отметить, что недостаточная дезинфекция может привести к росту бактерий и грибов, что в конечном итоге приведет к гибели культур [2]. С другой стороны, чрезмерная обработка может повредить клетки

эксплантов, снизив их жизнеспособность и регенеративные способности. Следовательно, выбор оптимальных условий дезинфекции, таких как концентрация и время воздействия антисептических средств, является критическим этапом в разработке методики микрклонального размножения. Так, в последние годы наблюдается значительный рост интереса к микрклональному размножению различных видов растений, включая декоративные, сельскохозяйственные и лекарственные культуры. Данный метод позволяет не только эффективно воспроизводить растения с желаемыми характеристиками, но и ускорять процесс селекции, улучшая адаптационные свойства и устойчивость к неблагоприятным условиям окружающей среды [3]. В контексте глобальных изменений климата и увеличения потребности в устойчивых сельскохозяйственных системах, микрклональное размножение становится все более актуальным и востребованным.

Таким образом, для успешного введения в культуру и каллусообразования исследуемого растительного объекта, необходимы совершенные методы пробоподготовки эксплантов, включающие в себя обработку дезинфицирующими растворами (ДР). В связи с этим, целью работы стала разработка оптимальной методики дезинфекции эксплантов, как технологического этапа микрклонального размножения на примере фиалки обыкновенной.

Так, для изучения влияния типа дезинфицирующего вещества использовали наиболее распространенные: 3% раствор гипохлорит натрия (Омега-Дент, Россия) и 3% раствор перекиси водорода (Росбио, Россия). В качестве культуры для микрклонального размножения использовали фиалку обыкновенную (*Viola riviniana*)

На первом этапе микрклонального размножения растений приготовили агаризованную питательную среду Мурасиге-Скуга (БиолоТ, Россия), содержащую эссенциальные макро- и микроэлементы, витамины, сахарозу и хелат железа. Также, питательную среду модифицировали фитогормоном – индолилуксусной кислотой (ИУК) (Green Agrolab, Россия), концентрация которого составила 3 мг/л. Полученную среду разливали в обработанные чаши Петри по 20-30 мл. Для минимизации рисков контаминации чаш и образцов, эксперимент проводили под действием УФ-лампы и над пламенем спиртовой горелки. Для лабораторного исследования формировали по 3 стебельных экспланта фиалки с параметрами: длина 3-5 мм, диаметр 0,5-2 мм. Далее, проводили подготовку образцов с использованием ДР следующим образом: подготовленные экспланты помещали на 55 секунд в ДР, затем образцы перемещали на 85 секунд в дистиллированную воду, после чего их вводили в подготовленную среду. Так, экспланты фиалки культивировали при 27°C в термостате ТС-1/80 СПУ (Смоленское СКТБ, Россия). Результаты фиксировали спустя 5,10,15,20,25 и 30 суток экспозиции (таблица 1).

Таблица 1

Результаты изучения влияния типа дезинфицирующего раствора на возможность каллусообразования фиалки обыкновенной

Наименование серии	Дез. раствор	Время экспозиции					
		5	10	15	20	25	30
А	Гипохлорит натрия	0*	0	+	+	+	+
Б	Перекись водорода	0	0	-	-	-	-

*примечание: «+» – каллусообразование, «0» – отсутствие каллуса, «-» – гибель культуры

Анализ полученных результатов показал, что спустя 10 суток экспозиции, во всех образцах отсутствовали видимые изменения в росте и развитии культур. Данный период сопровождается начальным этапом роста и адаптацией к условиям питательной среды. На 15 сутки, в серии с перекисью наблюдались деграция и гибель клеток растения, обусловленные появлением темно-коричневых пятен на экспланте. В свою очередь, в образцах серии А началось формирование полупрозрачных клеточных тканей, имеющих аморфную структуру. Так, в

каждой временной точке фиксации результатов серии А объем каллусной ткани увеличивался, что говорит о возможности применения гипохлорита натрия в качестве дезинфицирующего раствора на этапах пробоподготовки эксплантов для введения в культуру.

Установлено, что перекись водорода проявляет агрессивный дезинфицирующий эффект по отношению к тканям фиалки. Объясняется это тем, что биохимические компоненты, входящие в состав клеточной структуры тканей культуры, подвергаются значительному окислению, высвобождающегося кислорода и пероксидных групп ДР, поэтому данный процесс приводит к гибели клеток растения.

Таким образом можно заключить, что доступным и эффективным дезинфицирующим веществом, который препятствует контаминации образцов во время микроклонального размножения – является 3% раствор гипохлорита натрия. В дальнейшем, планируется изучение влияния внешних условий (температура, влажность) и типа фитогормона на возможность каллусообразования различных культур.

Библиографический список

1. Демидчик В. В. и др. Микроклональное размножение растений //Наука и инновации. 2019. №. 6 (196). С. 4-11.
2. 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.
3. Мизанбекова А. и др. Микроклональное размножение растений //Экономика и социум. 2022. №. 2-2 (93). С. 1142-1148.