РАЗДЕЛ VIII. БИОТЕХНОЛОГИИ

Егорова Д.А., Молканова О.И.

Оптимизация методики клонального микроразмножения *Stevia rebaudiana* BertoniФГБУН Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН
(Россия, Москва)

doi: 10.18411/lj-11-2020-45

idsp: ljjournal-11-2020-45

Аннотация

Стевия медовая (*Stevia rebaudiana* Bertoni) – многолетнее травянистое растение, характеризующееся рядом ценных лекарственных и пищевых свойств. Получение большого количества саженцев данного растения сопряжено с некоторыми трудностями, поэтому применение биотехнологических методов для размножения *S. rebaudiana* является актуальным. Изучено влияние минерального состава питательной среды и регуляторов роста на регенерацию микропобегов. Наиболее высокие значения морфометрических показателей были получены при культивировании на питательной среде ½ MS с добавлением 0,5-1,0 мг/л БА.

Ключевые слова: *Stevia rebaudiana*, клональное микроразмножение, регуляторы роста, коэффициент размножения

Abstract

Honey stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) is a perennial herb characterized by a number of valuable medicinal and nutritional properties. Obtaining a large number of seedlings of this plant is associated with some difficulties, therefore, the use of biotechnological methods for the reproduction of *S. rebaudiana* is actual. The mineral composition and growth regulators influence of the nutrient medium on the regeneration of microshoots has been studied. The highest values of morphometric parameters were obtained by cultivation on a ½ MS nutrient medium supplemented with 0,5-1,0 mg/l BA.

Keywords: *Stevia rebaudiana*, clonal micropropagation, growth regulators, reproduction rate

Stevia rebaudiana Bertoni – многолетнее травянистое растение-эндемик из Парагвая, относящееся к семейству Asteraceae [1]. Род *Stevia* насчитывает около 110 видов. Во многих частях мира стевия используется как некалорийный подсластитель. Наиболее сладким видом является *S. rebaudiana*, чьи листья в 30 раз слаще тростникового сахара, так как содержат дитерпеновые гликозиды (стевиозид, стевиол, ребаудиозид) [2]. Для стевии характерны антимикробные, противовоспалительные, кардиотонические, мочегонные, гипогликемические, гипотензивные и сосудорасширяющие свойства. Лекарственное сырье *S. rebaudiana* показано для лечения целого ряда заболеваний и является востребованным на мировом рынке [3].

Размножение данного растения связано с рядом трудностей. Для семян характерны низкая всхожесть и неоднородность. Размножение черенкованием является трудозатратным и ограниченным во времени. Клональное микроразмножение *S. rebaudiana* является альтернативным методом для получения достаточного количества растений за короткий период времени [2].

Есть несколько сообщений о размножении стевии *in vitro*. В исследовании Hossain et al. [4] наилучшие результаты были получены при культивировании на питательной среде MS с добавлением 1,0 мг/л БА. Mubarak et al. [5] сообщили, что самое высокое побегообразование наблюдали на среде MS с добавлением 0,5 мг/л БА. В исследовании Шульгиной и др. [6] на питательной среде MS в условиях красного

света и добавлением 1,0 мг/л ВА, 0,5 мг/л IAA коэффициент размножения был максимальным и составил 11,9.

Так как этап собственно размножения является одним из самых дорогостоящих, возникает необходимость подбора таких предельно низких концентраций компонентов питательной среды, которые позволят сбалансировать величину морфогенетического потенциала регенерантов с минимизацией затрат на производство одного растения. Целью данного исследования является оптимизация этапа собственно микроразмножения *S. rebaudiana*, заключающаяся в подборе минерального и гормонального составов питательной среды.

Материалы и методы исследований

В работе были использованы регенеранты *Stevia rebaudiana* Bertoni, полученные путем проращивания из семян. Получение стерильной культуры *Stevia rebaudiana* Bertoni *in vitro* производили по общепринятым методикам [7]. Семена стерилизовали в 7%-ом растворе гипохлорита кальция ($\text{Ca}(\text{ClO})_2$) в течение 15-20 мин., затем переносили на безгормональную питательную среду Murashige and Skoog (MS) [8] и проращивали *in vitro* на свету. Прорастание семян наблюдали через 7-10 дней после помещения на питательную среду. В качестве эксплантов для дальнейшего культивирования использовали проростки с удаленными корнями.

На стадии микроразмножения изучали влияние минерального состава питательных сред MS, Quoirin and Lepoivre (QL) [9], $\frac{1}{2}$ MS и $\frac{1}{2}$ QL (с половинным набором макросолей) на регенерацию микропобегов *S. rebaudiana in vitro*. Для изучения влияния гормонального состава питательной среды на рост и развитие растений на стадии собственно микроразмножения использовали питательную среду MS, дополненную ВА (6-бензиламинопурин) в концентрации 0,1; 0,3; 0,5 и 1,0 мг/л. В качестве контроля использовали безгормональную среду MS. Измеряли длину микропобегов, подсчитывали их число и рассчитывали коэффициент размножения. В условиях лаборатории микропобеги *S. rebaudiana* выращивали при освещении (2000 лк) и фотопериоде 16/8 ч., температуре 23- 25 °С и влажности 70 %. Обработку полученных данных проводили по общепринятым методам статистического анализа с использованием программного обеспечения Microsoft Office Excel 2010.

Результаты и обсуждение

На реализацию морфогенетического потенциала оказывают значительное влияние компоненты питательной среды. Для поддержания устойчиво пролиферирующей культуры *in vitro* весьма существенным является правильный подбор и оптимальные соотношения регуляторов роста [10].

На первом этапе сравнивали питательные среды, различные по минеральному составу (табл. 1).

Таблица 1

Влияние минерального состава питательной среды на морфометрические показатели *S. rebaudiana*

Питательная среда	Длина микропобега, см	Число микропобегов, шт.	Коэффициент размножения
MS (контроль)	4,5±0,1	3,8±0,2	5,1±0,2
$\frac{1}{2}$ MS	4,0±0,1	3,4±0,2	5,0±0,2
QL	3,7±0,1	3,0±0,1	4,4±0,1
$\frac{1}{2}$ QL	3,1±0,1	2,8±0,1	4,3±0,3

Наибольший коэффициент размножения (5,1±0,2), длина (4,5±0,1) и число (3,8±0,2) микропобегов были получены при культивировании на питательной среде MS. Сравнительный анализ полученных данных на питательных средах MS и 1/2 MS не

показал существенной разницы между коэффициентами размножения и числом микропобегов, что позволяет в дальнейшем использовать питательную среду MS с половинным набором макроэлементов.

С целью повышения коэффициента размножения растений на питательной среде 1/2 MS, дополнительно были испытаны различные концентрации ВА. Увеличение концентрации регулятора роста способствовало увеличению длины микропобега (рис. 1).

Рис. 1. Влияние концентрации ВА на длину микропобега *S. rebaudiana*

Максимальная длина микропобегов ($15,7 \pm 0,2$) была достигнута при культивировании на питательной среде, содержащей 1,0 ВА. При концентрации 0,1 и 0,3 мг/л ВА разница между длиной микропобегов является несущественной.

Установлено, что с увеличением концентрации ВА происходило увеличение коэффициента размножения (рис.2).

Рис.2. Влияние концентрации ВА на коэффициент размножения *S. rebaudiana*

Максимальный коэффициент размножения был достигнут при концентрации 1,0 мг/л ВА и составил $9,4 \pm 0,2$. Однако при сравнении результатов, полученных на среде с добавлением 0,5 мг/л ВА, разница между показателями оказалась несущественной ($9,1 \pm 0,3$), что позволяет использовать более низкие концентрации цитокининов на этапе собственно размножения.

Таким образом, установлено, что на этапе микроразмножения наиболее эффективно использовать питательную среду 1/2 MS, содержащую 0,5-1,0 мг/л ВА. Полученные данные свидетельствуют о возможности успешного использования более

низких концентраций растворов макросолей и регуляторов роста с целью минимизации затрат при массовом размножении растений *S. rebaudiana*.

Работа выполнена в рамках ГЗ ГБС РАН (№118021490111-5).

1. Alhady M.R.A.A. Micropropagation of *Stevia rebaudiana* bertonii - A new sweetening crop in Egypt / Global Journal of Biotechnology & Biochemistr. 2011. V. 6. №. 4. Pp. 178-182.
2. Taleie N., Hamidoghli S., Hamidoghli Y. In vitro plantlet propagation of *Stevia rebaudiana* Bertoni / South West Journal Horticulture Biology and Environment. 2012. V. 3. Pp. 99–108.
3. Goyal S.K., Samsheer, Goyal R.K. *Stevia* (*Stevia rebaudiana*) a bio-sweetener: a review / Int. J. Food Sci. Nutr. 2010. V.61. Pp. 1-10.
4. Hossain M.A., Shamimkabar A.M., Jahan T.A., Hassan M.N. Micropropagation of *Stevia* / International Journal of Sustainable Crop Production. 2008. V. 3(4). Pp. 1-9.
5. Mubarak M.H., Belal A.H., Geddaawy I.H., Sarag E.I., Nasr M.I. Micropropagation of *Stevia rebaudiana* in vitro / Meeting the Challenges of Sugar Crops and Integrated Industries in Developing Countries, Al Arish, Egypt. 2008. Pp. 293-298.
6. Шульгина А.А., Калашникова Е.А., Тараканов И.Г. Зависимость морфогенеза *Stevia rebaudiana* in vitro от факторов различной природы / Известия Уфимского научного центра РАН. 2018. №3-5. С. 105-109.
7. Бутенко Р.Г., Гусев М.В. и др. Клеточная инженерия. М.: Высшая школа, 1987. 127 с.
8. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures / Physiologia Plantarum. 1962. V.15. Pp. 473-497.
9. Quoirin M., Lepoivre P. Etude de milieux adaptes aux cultures in vitro de *Prunus* / Acta Hort. 1977. V. 78. Pp. 437–442.
10. Егорова Д.А., Виноградова Ю.К., Горбунов Ю.Н., Молканова О.И. Клональное микроразмножение и оценка адаптивной способности белоцветковой формы *Chamaenerion angustifolium* (L.) Scop. / Вестник Удмуртского университета. Серия Биология. Науки о Земле. 2016. Т. 26. № 4. С. 25-31.

Маркелов Д.А., Аркатов Д.Н., Ермолаева В.В.

Биопротезирование. От мечты к реальности

*ФГБОУ ВО «Саратовский государственный технический университет имени Гагарина Ю.А.»
(Россия, Саратов)*

doi: 10.18411/lj-11-2020-46

idsp: ljjournal-11-2020-46

Аннотация

В данной статье рассматриваются вопросы, связанные с развитием биопротезирования как отдельной отрасли биомедицинской инженерии, её роли в реабилитации и социальной адаптации людей с физическими недостатками. Проанализированы основные направления и перспективы использования биоинженерных технологий в создании искусственных органов и протезов. Особое внимание уделено принципам работы бионических протезов, проблемам их использования.

Ключевые слова: biomedical engineering, orthotics, proprioception, implants, artificial organs, the functionality, the bionic prosthetic technology.

Abstract

This article discusses issues related to the development of bioprosthetics as a separate branch of biomedical engineering, its role in the rehabilitation and social adaptation of people with physical disabilities. The main directions and prospects of using bioengineering technologies in the creation of artificial organs and prostheses are analyzed. Special attention is paid to the principles of operation of bionic prostheses and the problems of their use.

Keywords: ключевое слово на английском языке, ключевое слово, ключевое слово ключевое слово ключевое слово ключевое слово