

ВВЕДЕНИЕ В КУЛЬТУРУ *IN VITRO* SCROPHULARIA UMBROSA DUMORT

**Асомани Антви Наоми, Хуснетдинова Ландыш Завдетовна, Тимофеева Ольга
Арнольдовна**

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Россия, Казань.

nasoant@yahoo.co.uk

Выращивание изолированных клеток и тканей растений на искусственных питательных средах в стерильных условиях требует поддержания асептических условий, и поверхностная стерилизация является одним из ключевых шагов. Необходимо подобрать такие способы и режимы обработки экспланта, которые бы обеспечили его полную стерилизацию, не повредив при этом клетки и ткани растения. Цель данного исследования заключалась в подборе стерилизующего агента, а также оптимизации режимов стерилизации растительного материала *Scrophularia umbrosa*.

В качестве первичных эксплантов был использован семенной материал, собранный из высушенных соцветий *S. umbrosa* в природной популяции на территории Республики Татарстан. В экспериментах в каждом варианте опыта использовалось по 10 семян в трехкратной повторности. Перед стерилизацией семена отмывались в течение нескольких минут в мыльном растворе в мешочках из фильтровальной бумаги и затем проточной водой. Дальнейшая поверхностная стерилизация была проведена в асептических условиях в ламинарном шкафу с использованием двойного режима стерилизации. Сначала семена обрабатывались 70 % этиловым спиртом в течение 30 секунд с последующей стерилизацией в растворе коммерческого отбеливателя «Белизна» (5,25 % гипохлорита натрия (NaOCl)) в различных концентрациях (10 %, 15 % и 20 %) с добавлением капли Tween 80 с экспозицией 10 минут. Затем семена пятикратно промывались дистиллированной стерильной водой и помещались на поверхность безгормональной питательной среды Мурасиге и Скуга (МС). Семена культивировались в фитотроне марки ЛиА-3 при температуре $+26 \pm 2^\circ\text{C}$, 16-ти часовой фотопериоде, освещенности 30000 люкс. Состояние проросших растений оценивалось в течение трех недель проведения эксперимента посредством визуального осмотра.

Статистическую обработку полученных результатов о прорастании семян после поверхностной стерилизации и доле зараженных культур проводились с использованием базового пакета анализа данных программы Microsoft Office Excel, статистическую значимую достоверность различий – с помощью t-критерия Стьюдента при уровне значимости $p < 0,05$.

В ходе исследования было показано, что в культурах не наблюдалось загрязнения микроорганизмами при всех выбранных режимах воздействия с использованием двойной стерилизации. Отсутствие загрязнения после применения трех концентраций (10 %, 15 % и 20 %) отбеливателем белизны показывает, что все выбранные концентрации подходят для получения асептических культур из семян *S. umbrosa*. Однако высокие концентрации стерилизующего раствора задерживали прорастание семян. Для семян, обработанных 10% отбеливателем «Белизна», был выявлен самый высокий средний показатель проросших семян после первой недели культивирования и составил 10,17 %, тогда как через три недели – 76,0 %.

Таким образом, высокий выход жизнеспособных растений (до 76 %) обеспечивается при применении раствора коммерческого препарата «Белизна» с концентрацией активного вещества (гипохлорит натрия) 5,25 % и экспозицией выдержки в течение 10 минут. Данный способ стерилизации является наиболее эффективным и экономичным, что позволяет его использовать при клональном микроразмножении *S. umbrosa in vitro*.

Ключевые слова: поверхностная стерилизация; *Scrophularia umbrosa*; семена; культивирование.

INTRODUCTION OF *SCROPHULARIA UMBROSA* DUMORT *IN VITRO*

**Asomani Antwi Naomi, Khusnetdinova Landysh Zavdetovna, Timofeeva Olga
Arnoldovna**

Kazan (Volga Region) Federal University, Russia, Kazan.

nasoant@yahoo.co.uk

The cultivation of plant cells and tissues on artificial media under sterile conditions requires maintaining aseptic conditions, of which surface sterilization is a key step. It is necessary to select a regime for explant treatment, which would ensure its complete sterilization, without damaging the cells and tissue of the plant. The purpose of this study was to select a sterilizing agent, as well as to optimize the sterilization methods of *Scrophularia umbrosa* seeds.

Seeds of *S. umbrosa*, collected from dried inflorescences in the natural population of the Republic of Tatarstan, were used as primary explants. In each experiment, 10 seeds were used in triplicate. Before sterilization, the seeds were washed for several minutes in soap solution and then under running water. Further surface sterilization was performed under aseptic conditions in a laminar flow cabinet using a dual sterilization regime. The seeds were first treated with 70 % ethanol for 30 seconds followed by sterilization in the commercial bleach solution “Белизна” (5.25 % of sodium hypochlorite) at various concentrations (10 %, 15 % and 20 %) containing a drop of Tween for 10 minutes. The seeds were then washed five times with sterile distilled water and placed on the surface of hormone-free Murashige and Skoog (MS) medium. The seeds were cultivated in a “ЛИА-3” phytotron at $26 \pm 2^\circ\text{C}$, a 16-hour photoperiod and 30,000 lux light intensity. The condition of the germinated plants was assessed visually for a period of three weeks.

Statistical analysis of the obtained results on seed germination and contamination rate after surface sterilization was carried out using the Microsoft Office Excel program at a 95 % confidence interval ($p < 0.05$).

The study showed that there was no microbial contamination in all the selected regimes of double sterilization. The absence of contamination after the application of the three concentrations (10 %, 15 %, and 20 %) of bleach “Белизна” indicates that all selected concentrations are suitable for the production of aseptic cultures from *S. umbrosa* seeds. However, high sterilizing solution concentrations delayed seed germination. The highest average germination rates of 10.17 % and 76.0 % were observed for the seeds treated with 10% bleach “Белизна” after the first and third weeks of cultivation respectively.

Thus, a high yield of viable plants (up to 76 %) is obtained when the commercial bleach “Белизна” solution with a concentration of 5.25 % sodium hypochlorite and exposure time of 10 minutes is used. This method of sterilization is the most effective and economical for use in clonal micropropagation of *S. umbrosa*.

Keywords: surface sterilization; *Scrophularia umbrosa*; seeds; tissue culture.