

УДК 582.757.2(581.16+58.085)

Размножение секуриноги (*Securinega suffruticosa* (Pall.) Rehd.) в культуре *in vitro*

Propagation of *Securinega suffruticosa* (Pall.) Rehd. *in vitro*

О. А. Чурикова

O. A. Churikova

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, e-mail: ochurikova@yandex.ru

Реферат. В статье приведены результаты исследований по отработке микроклонального размножения посредством прямого морфогенеза секуриноги полукустарниковой из коллекции Ботанического сада МГУ имени М.В. Ломоносова. Подобраны питательные среды для индукции морфогенеза, размножения и укоренения полученных растений *in vitro*. Показаны преимущества микроклонального размножения секуриноги путем прямого морфогенеза с использованием зеленых черенков. Это растение широко применяется в народной и официальной медицине. Практически все части растения содержат алкалоиды, аминокислоты, танины и флавоноиды. Секуринога также перспективна для использования в озеленении и садовом дизайне.

Summary. The results of the study of special features of *Securinega suffruticosa* (Pall.) Rehd. from the Moscow State University Botanical garden collection during the microclonal propagation via direct morphogenesis are given. Nutrient mediums for the induction of morphogenesis *in vitro*, propagation and rooting as well are selected. The advantages of microclonal propagation of *Securinega* via direct morphogenesis using green cuttings are revealed. This plant is widely used in traditional and official medicine. Practically all its parts are rich in alkaloids, aminoacids, tannins and flavonoids. *Securinega* is perspective for planting trees and shrubs and garden design as well.

Секуринога полукустарниковая – *Securinega suffruticosa* (Pall.) Rehd. (Euphorbiaceae) – представляет собой невысокий, до 3 метров высотой, раскидистый двудомный кустарник с многочисленными прямыми тонкими ветвями. Этот непохожий на типичные листопадные культуры древесный молочай выделяется необычной красотой ажурной и прозрачной кроны из тончайших побегов, эллиптическими листьями и свисающими плодами-коробочками, украшающими растение после полного опадения осенью ярко-желтых листьев. В дикой природе секуринога встречается на Дальнем Востоке, в Монголии, Китае, Японии, Корею, на Тайване. В России она распространена в Приморском и Хабаровском краях и Амурской области. В Сибири она редка и все ее сборы запрещены. Плантации секуриноги выращивают на Северном Кавказе, Украине, в Молдавии.

В культуре секуринога известна с 1783 г., когда её стали разводить в парках и ботанических садах Европы в качестве яркого и довольно неприхотливого растения для создания одиночных посадок. В России секуриногу полукустарниковую ввели в культуру в ботаническом саду в Санкт-Петербурге, куда её впервые в 1864 г. привезли с Дальнего Востока. В последнее время она активно стала применяться в современных стилях садового дизайна, как в солитерных, так и групповых посадках. Секуринога весьма нетребовательна к почвам и удивительно вынослива, хотя достаточно светолюбива. Это быстрорастущий кустарник с ежегодным приростом до 0,5 м. В условиях холодных зим молодые побеги обмерзают примерно до половины. Однако, это не сказывается на декоративных качествах растения. Секуринога – кустарник, хорошо переносящий обрезку и быстро отрастающий после неё. Это свойство является особенно важным в связи с ежегодным использованием в качестве сырья побегов растения, а также возможностью формирования его кроны.

Все части растения содержат алкалоиды (Raj et al., 2015), в основном, секуринин, а также суффрутинин, суффрутикозин, дигидросекуринин, аллосекуринин, секуринолы А, В и С. Стебли растения богаты аминокислотами (аргинин, аланин, глутамин, пролин, у-аминомасляная кислота, тирозин, валин, лейцин), дубильными веществами, крахмалом, танинами и флавоноидами, а листья содержат рутин (Vidyadhar et al., 2010; Garbe et al., 2015).

Интерес к этому растению издавна обусловлен, прежде всего, антиоксидантными свойствами, противораковой активностью содержащихся в нем веществ, наибольшее количество которых наблюдается в

период интенсивного его роста. Лекарственным сырьём служат слабодревесневающие облиственные верхушки побегов вместе с бутонами, цветками или плодами. Их собирают механизированным способом с июня по сентябрь. Секуринега давно и успешно используется в народной (китайской, тибетской, японской, корейской) и официальной медицине. Препараты из нее применяются также при астенических состояниях, параличах, гипо- и астенической форме неврастения и др. (Турова, Сапожникова, 1984). Так, наиболее известный из алкалоидов секуринин возбуждает центральную нервную систему, повышает рефлекторную возбудимость спинного мозга, возбуждает дыхание, повышает артериальное давление, усиливает сердечные сокращения и повышает мышечный тонус. Растительное сырье секуринеги используется также и в ветеринарии (Vidyadhar et al., 2010).

Секуринега размножается семенами, собранными в текущем сезоне, нуждающимися в стратификации для прорастания, и черенками. Так, М.Г. Николаева с соавторами (Николаева и др., 1985) отмечает необходимость холодной стратификации семян секуринеги при 0... –3 °С в течение 3–4 месяцев с выносом под снег. Для черенкования используют зеленые черенки, срезанные с молодых побегов. Укореняемость их составляет 45–60 %. Однако, для ускоренного размножения растения, а также получения большого количества растительного сырья для экстракции ценных веществ, содержащихся в нем, целесообразно использование современных биотехнологических методов, а именно, технологии микроклонального размножения растений и получения каллусных и суспензионных культур *in vitro*.

В некоторых работах приводятся интересные данные по культивированию секуринеги условиях *in vitro* в жидких и твердых средах поочередно с целью разработки эффективных методов получения наибольшего объема биомассы при выращивании в биореакторе для выделения впоследствии из нее ценных алкалоидов (Raj et al., 2015). Авторы изучали влияние освещения и различных добавок в питательную среду на рост биомассы и продукцию алкалоидов. Источником растительного материала для таких экспериментов служили фрагменты семядолей проростков секуринеги, полученных из пророщенных семян на влажной фильтровальной бумаге в чашках Петри. Сеянцы выращивали в течение 14 дней на безгормональной питательной среде, а затем использовали для проведения эксперимента. Однако, в известной нам литературе, к сожалению, не содержится описания размножения секуринеги *in vitro* и получения укорененных растений-регенерантов. Целью наших исследований была разработка технологии микроклонального размножения секуринеги полукустарниковой в культуре *in vitro* посредством прямого морфогенеза, минуя стадию каллюсообразования. Исходным материалом для введения в стерильную культуру были зеленые черенки, а также семена, собранные с растений, выращиваемых в Коллекции Ботанического сада МГУ на Ленинских горах. Собранные осенью семена, а также срезанные в июле черенки подвергали предстерилизационной обработке путем замачивания их на 20–25 минут в растворе фундазола и последующего выдерживания в течение 1–2 минут в 70%-м этиловом спирте. Затем проводили поверхностную стерилизацию черенков в 3%-м растворе лизоформина в течение 15–20 минут (для семян экспозицию увеличивали до 20–25 минут), три раза промывали их в стерильной дистиллированной воде, выдерживая в каждой смене по 10 мин. Простерилизованные семена помещали на среду ½ MS без добавления сахарозы и гормональных регуляторов роста и держали в климакамере при температуре 0... –3 °С. Следует отметить, что спустя 3 месяца содержания семян в климакамере нами не было отмечено каких-либо признаков прорастания семян.

Первичные экспланты (верхушки побегов и микрочеренки, представляющие собой 1–2 узла с пазушными почками) после стерилизации помещали на агаризованную питательную среду MS для индукции морфогенеза по прописи Мурасиге и Скуга (Murashige, Skoog, 1962) с добавлением 30 г/л сахарозы и 0,5 мг/л 6-бензиламинопурина (BAP) и инкубировали при +21... +23 °С и стандартном фотопериоде (16 ч день/8 ч ночь). Через 6–7 недель культивирования из пазушных почек развивались многочисленные побеги высотой 2,5–3 см (рис. 1А). Их по одному высаживали на среду MS с добавлением 1 мг/л BAP, на которой происходило дальнейшее наращивание метамеров и рост побегов. Впоследствии их делили на микрочеренки, которые переносили на среду для размножения: MS с добавлением 20 г/л сахарозы и 1,5 мг/л 2-изопентиладена (2-IP). На данной среде наблюдался активный рост множественных побегов из пазушных почек (рис. 1Б). Сформировавшиеся побеги высотой 5–6 см переносили на среду для индукции ризогенеза: ½ MS с добавлением 1 мг/л индолмасляной кислоты (IBA). Спустя 2,5–4 недели культивирования на этой среде становились заметными придаточные корни, формирующиеся в основании побегов (рис. 1В). Полученные таким образом растения-регенеранты были готовы для переноса в почвенную смесь и последующей адаптации к условиям *in vivo*.

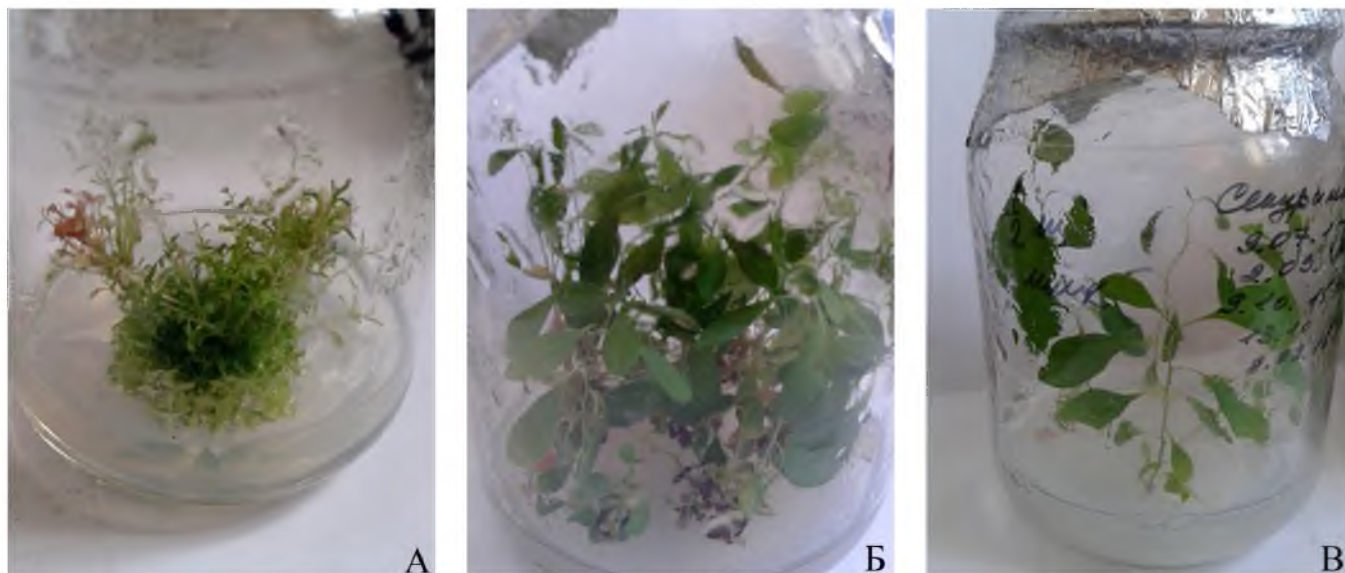


Рис. 1. Секуринегя полукустарниковая: А – многочисленные побеги на среде для индукции; Б – рост и развитие побегов на среде для размножения; В – укорененные побеги на среде для индукции ризогенеза

Таким образом, нами была отработана методика предстерилизационной обработки, поверхностной стерилизации первичных эксплантов-фрагментов побегов, введения их в стерильные условия, индукции морфогенеза и собственно размножения в культуре *in vitro* секуринегя полукустарниковой посредством прямого морфогенеза, минуя стадию каллюсообразования. Использование для ускоренного размножения секуринегя полукустарниковой в качестве эксплантов фрагментов зеленых черенков является предпочтительным по сравнению с семенами.

Благодарности

Работа выполнена при частичной поддержке гранта РФФИ № 14-50-00029 «Научные основы создания банка депозитария живых систем» (направление «Растения»).

ЛИТЕРАТУРА

- Николаева М. Г., Разумова М. В., Гладкова В. Н. Справочник по проращиванию покоящихся семян. – Л.: Наука, 1985. – 347 с.
- Турова А. Д., Сапожникова Э. Н. Лекарственные растения СССР и их применение. – М.: Медицина, 1984. – 126 с.
- Garbe M. M., Jamilu J., Muhammad M. A., Akpojo A. J., Ibrahim A. A., Marte H. I. *Securinega virosa* (Euphorbiaceae) root bark extract inhibits glioblastoma multiforme cell survival *in vitro* // African Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2015. – Vol. 9, No. 27. – P. 684–693.
- Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // *Physiol. Plant.*, 1962. – No. 15. – P. 473–497.
- Raj D., Kokotkiewicz A., Luczkiewicz M. Production of therapeutically relevant indolizidine alkaloids in *Securinega suffruticosa in vitro* shoots maintained in liquid culture systems // *Appl. Biotechnol.*, 2015. – Vol. 175. – P. 1576–1587.
- Vidyadhar S., Sheela T., Kunar L. Sh., Gopal T. K., Chamundeeswari D., Saidulu A., Maheswara C. U. *In vitro* antioxidant activity of chloroform extract of aerial parts of *Securinega leucopyrus* (Willd.) Muell. // *Der Farmacia Lettre*, 2010. – Vol. 2, No. 6. – P. 252–256.