

ВЫРАЩИВАНИЕ КАЛАНХОЭ ПЕРИСТОГО В УСЛОВИЯХ АРАРАТСКОЙ ДОЛИНЫ СОПРЯЖЕННЫМ МЕТОДОМ IN VITRO И ГИДРОПОНИКИ

Каланхоэ перистое (*Kalanchoe pinnata* (Lam.) Pers.) является одной из эффективных культур, обладающий высокой биологической активностью и экономически выгодной для возделывания из-за повышенной ценности сырья и многоцелевого использования. Это многолетнее травянистое растение семейства толстянковых (*Crassulaceae*), с прямым мясистым стеблем высотой 0,5 до 1,2м, одревеснеющий в нижней части. Растет в тропической Африке, на Мадагаскаре, в Южной и Центральной Америке, на островах Карибского моря, Гавайских островах. В СНГ распространен как комнатная культура. Плантации каланхоэ имеются в Кобулетском и Шуа-Хоргском – хозяйствах АПК "Эфирлекраспрома" Аджарии. Потребность в сырье в СНГ определена в 380т в год. В Институте проблем гидропоники (ИПГ) разработана технология выращивания каланхоэ в гидропонических условиях (1). Сотрудниками завода бактериальных препаратов Киевского НИИ эпидемиологии, микробиологии и паразитологии им. Л. В. Громашевского проведена значительная работа по освоению производства и стандартизации препарата "Сок каланхоэ" (5).

В качестве лекарственного сырья используются свежие молодые побеги с листьями. Сок обладает антивирусными, бактерицидными и бактериостатическими свойствами. Сок и мазь каланхоэ обладают противовоспалительным свойством, способствуют более быстрому очищению ран и язв от некротических тканей и быстрой эпителизации раневой и язвенной поверхности. Применяют как наружное средство в зубоврачебной, хирургической и гинекологической практике и в офтальмологии. Крем "Каланхоэ" содержащий 15 % сока растений предназначен для лечения увядающей кожи лица, профилактики ее старения (3, 6, 7, 10).

Каланхоэ заражается некоторыми болезнями как гниль стебля и корней, мучнистой росой, в результате 7–8 % посаженных саженцев гибнут. Растения могут поражаться вирусами. Основным симптомом заболевания является нерезко выраженная мозаичная расцветка листьев. В инфицированных растениях наблюдается снижение дневного синтеза и гидролиза крахмала, поэтому сок больных растений содержит меньше полисахаридов (5). Распространяются болезни и вредителями, главным образом с посадочным материалом. Поражаемость маточного растения передается потомству и чем интенсивнее размножение культур, тем активнее распространяются болезни. Следовательно, система производства посадочного материала должна включать создание специальных изолированных маточных участков, где можно проводить отбор лучших исходных растений по внешнему состоянию и продуктивности.

Основная цель исследований – разработка приемов повышения качества посадочного материала при ускоренном размножении в культуре *in vitro* и гидропонике. Разработка способов основана на возможностях генетической природы выражения признака, способствующая получению растений с

повышенной продуктивностью, более устойчивых к заболеваниям, с высокими качественными показателями лекарственного сырья.

Материал и методика. Опыты проводились в 2003-2006 гг. на экспериментальной гидропонической станции (ЭГС) и в лаборатории культуры тканей ИПГ. Опытные участки находятся в Араратской долине. В деле оздоровления и размножения растений применяли экспериментально созданную систему *in vitro* – органы и ткани высших растений, выращиваемые в контролируемых условиях на искусственных питательных средах, что позволяет изучать рост, развитие растительного органа. Для получения микрорастений, выбирая объект-меристему апикальных и пазушных почек, в определенных условиях культивирования получены растения-регенеранты, идентичные исходному растению, т. е. клоны (4). Для стерилизации органов растений применялись различные стерилизующие вещества. Из активных хлорсодержащих растворов – хлорная известь, хлорамин Б, а из растворов соединений ртути – 0,1–0,2 % растворы сулемы, 0,1 % раствор диазида. Пробирочные микрорастения для микроклонального размножения были получены из верхушечных меристем, вычлененных из стерильных молодых побегов. Культуральные среды приготавливались по прописи Мурасиге-Скуга (МС) (12), модифицированной нами. Модификация проводилась за счет разбавления в два раза, изменения количества агара, сахарозы, витаминов в составе питательной среды (8, 9, 13). Исследование по возможности выращивания трех видов посадочного материала (черенки, пробирочные микрорастения, детки) и изучение биологии роста и развития каланхоэ включали:

- выявление факторов, влияющих на формирование побегов, листьев. С этой целью изучалось влияние условий культивирования (*in vitro*, гидропоника, почва) и прищипка на качество и количество формирующихся побегов, листьев;
- разработка приемов способствующих образованию деток, повышению процента укоренения черенков и обеспечивающих их рост и развитие.

В результате исследования получен разнovidный посадочный материал (черенки, пробирочные микрорастения, детки). В условиях открытой гидропоники (наполнитель: гравий, черный вулканический шлак) и почвы (контроль) работы продолжались в направлениях:

- изучение роста, развития маточных растений;
- возможность производства посадочного материала и лекарственного сырья.

В ЭГС в основном применялся питательный раствор Г.С.Давтяна (11) или его разные вариации. Занимаемая площадь в гидропонике 10 – 20, в почве – 2 кв.м. Повторность опытов 3 – 4 кратная.

Полученные цифровые данные подвергались статической обработке по Б.А.Доспехову (2). Режим культивирования в камере искусственного климата следующий: температура воздуха – 10–25 °С, освещенность – 3000–5000 люкс, фотопериод – 16 часов, относительная влажность – 60%. Адаптация пробирочных микрорастений проведена в гидропонических условиях в камере искусственного климата (8, 12).

Результаты и обсуждение. Результатами исследования выявлено, что в зависимости от биологических особенностей каланхоэ, процесс клонального микроразмножения можно проводить:

- активацией развития уже существующих в растении меристем (апекс стебля, пазушные и спящие почки стебля);
- индукцией возникновения деток листового экспланта.

Микрорастения возникающие обеими путями были генетически идентичны родительским формам и пригодными для микрочеренкования. При получении исходных растений использован метод клонального микроразмножения активацией пазушных почек, основанный на снятии апикального доминирования или удалении главного побега и микрочеренкование в пробирке на питательной среде, или введение в питательную среду цитокининов, индуцирующих развитие многочисленных пазушных побегов (4, 8).

Исследования показали, что основными приемами при оздоровлении и ускоренном размножении посадочного материала и получении лекарственного сырья каланхоэ перистого сопряженным методом гидропоники и *in vitro* являются:

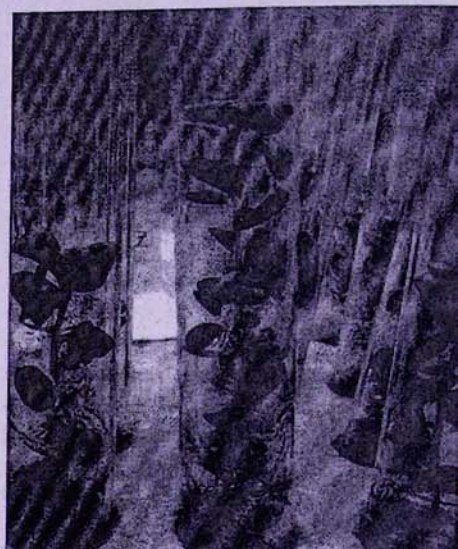
- отбор исходного материала (лист, черенок);
- выращивание растений в беспочвенных условиях в камере искусственного климата;
- контроль растений на инфекцию;
- отбор и выращивание растений в гидропонических установках для термотерапии;
- термотерапия при температуре 35–38 °C;
- вычленение и выращивание органов растений в культуре *in vitro*;
- повторный контроль на инфекцию;
- повторное оздоровление в культуре *in vitro*, включая термотерапию;
- ускоренное размножение растений-регенерантов в культуре *in vitro*;
- повышение приживаемости микроконируемых растений при их пересадке в условиях *in vivo*;
- черенкование растений в условиях гидропоники;
- получение лекарственного сырья в условиях открытого грунта.

Оздоровленные пробирочные растения в дальнейшем размножались микрочеренкованием. Под ламинарным боксом растения разрезались так, чтобы на каждом отрезке стебля оставалась пара листочков. Полученные микрочеренки и отделенные листочки снова помещались в пробирки с питательной средой. Состав питательной среды для корнеобразования более простого состава (1/2 МС) с содержанием 0,1 % ауксина или без ауксина (контроль). Выявлено, что в весенние месяцы и в начале лета корнеобразование микрочеренков 97–99 % наблюдается уже через 7–10 дней в обоих вариантах. Однако, по сравнению с опытным, в контрольном варианте корни были тоньше. Через 10–12 дней после посадки в выемках края экспланта листочка, из выводковых почек, образуются корешки, а уже на 30-ый день формируются 6–7мм высотой микрорастения, а на 40-ой день высота достигает 2–3см. В это время происходит естественное отделение деток от маточного листа и детка способна автономно ассимилировать. Коэффициент размножения пробирочных растений за один пассаж, в среднем 1:5, зависит от количества междоузлий на побеге-регенеранте и колеблется 1 : 2 – 1 : 8, наименьшее – наблюдается зимой, наибольшее – летом и осенью. Повторяя пассажи, за 7 месяцев от одного экспланта можно получить до 30 тысяч микрорастений, а при традиционном

способе размножения — до 40 укорененных черенков. После получения исходного материала, дальнейшее размножение черенкованием проведено традиционным методом в март-май месяцах. Результаты исследования показали, что 100 % корнеобразование наблюдается уже на 7-ой и 10-ый день, а через 15 дней черенки готовы к пересадке на плантациях (рис.1). Весной при посадке листьев в речном песке за 20 дней на одном листочке развивается 3–4 деток, которые через 1,5 месяца имеют 4–5 см высоту и 2–3 междоузлия.



а



б

Рис.1. Каланхоэ перистое в культуре *in vitro* (а — детки; б — микрорастения).

Выявлено, что для деткообразования определенное значение имеет величина площади посаженных листьев. Из листочков площадью 11 x 7 см развиваются 8,3 деток/лист, а 3,5 x 4,5 см — 3,5 деток/лист. В воде на листочках корешки появляются через 6, а детки — 24 дней.

В результате проведенных работ получен разнообразный посадочный материал (черенки, пробирочные микрорастения, детки) дальнейшее изучение которых проведено в открытом грунте. Посадка каланхоэ в открытой гидропонике и почве проводилась по 20 шт/кв. м в конце апреля, или в первой декаде мая при температуре воздуха больше 15°C. Продолжительность вегетационного периода — 150–155 дней. Первые две недели пробирочные растения и детки очень чувствительны к влажности наполнителя, которая должна иметь мелкие частицы и содержать 80–85 % влаги. В случае крупных размеров наполнителей, или отсутствия требуемой влажности (на гравии) снижается приживаемость. Как показывают данные рис. 2, наибольшая приживаемость растений наблюдается на вулканическом шлаке и на почве (контроль), а из испытуемых посадочных материалов — укорененных черенков и микрорастений.



Рис. 2 Влияние условий выращивания на приживаемость каланхоэ в открытом грунте, %, (средние данные за 2004-2006гг).

Данные рис. 3 показывают, что в начале вегетации рост каланхоэ весной и в первый период лета замедлен. С повышением температуры воздуха в июле рост усиливается, растут стебель и побеги. Интенсивный рост и развитие наблюдается в июле-сентябре. Осенью, перед сбором урожая в гидропонике на вулканическом шлаке высота растений у укорененных черенков достигает 100, микрорастений – 70, деток – 50,4 см, а в почвенных условиях – 64, 34, 25 см, соответственно.

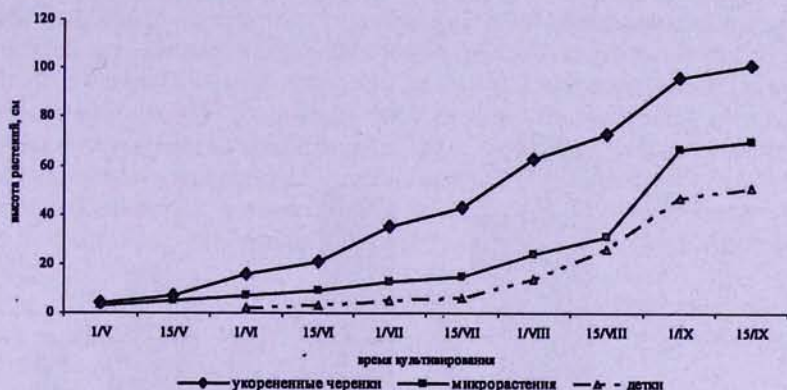


Рис. 3. Влияние разновидности посадочного материала на динамику роста каланхоэ в условиях открытой гидропонии (наполнитель вулканический шлак).

При культивировании каланхоэ за вегетационный период развиваются побеги (от укорененных черенков 5, пробирочных растений и деток 8 шт/раст.) пригодные для черенкования, и по средним данным заготовлены в гидропонических условиях по 108, в почвенных – 56 черенков с кв. м. Необходимо отметить также, что черенки, полученные из маточных деток и

пробирочных растений, были лучшего качества, чем от посадочного материала – укорененных черенков, что дает основание, с целью размножения, рекомендовать пробирочные растения и детки как маточные растения.



Рис. 4. Растения каланхоэ перистого из разнovidного посадочного материала в конце вегетации. Посадочный материал: 1. укорененные черенки (наполнитель–гравий); 2. укорененные черенки (наполнитель–вулканический шлак); 3. микрорастения (наполнитель–вулканический шлак); 4. детки (наполнитель–вулканический шлак).



Рис. 5. Урожай надземной массы каланхоэ в условиях открытой гидропоники и почвы (средние данные за 2004-2006гг.).

Судя по результатам представленным на рис. 4 и 5, разновидность посадочного материала оказывает влияние на урожай надземной массы каланхоэ. При беспочвенном выращивании на наполнителе шлак по урожаю (с кв.м) черенки превосходят пробирочных микрочеренков в 1,4; деток – в 2,1 раза, на наполнителе гравий – в 2,5 и 2,8, а при почвенном выращивании – 1,8 и 2,1 раза, соответственно. Данные также показывают, что каланхоэ трех видов посадочного материала, выращенного в условиях гидропоники на наполнителе шлак, по надземной биомассе превосходят таковые, выращенных на почве: в 2,1; 2,6 и 2,1 раза, соответственно.

Таблица

Весовое соотношение листьев, стеблей и корней в надземной массе и в целом растений при посадке разновидного посадочного материала

Посадочный материал	Соотношение в надземной массе, %		Соотношение в целом растении, %		
	лист	стебель	лист	стебель	корень
укорененные черенки	70,7	29,3	66,0	27,4	6,6
пробирочные растения	76,0	24,0	70,0	22,0	8,0
детки	77,8	22,2	67,7	19,3	13,0

Предложенный способ выращивания ценного лекарственного растения каланхоэ приобретает определенное значение для производства фармацевтического препарата "Сок каланхоэ" в Армении.

От общего содержания сока, в растениях каланхоэ, приходится на листья и молодые побеги. В связи с этим рост, развитие растений и весовое соотношение листьев и стеблей для общего выхода сока имеет решающее значение (таблица). Снижение доли листьев в общей биомассе надземных органов наблюдается в сильном разрастании стебля, опадании листьев в конце вегетации. Опадание листьев особенно усиливается в конце сентября и в октябре, когда повышается влажность и снижается температура воздуха. Влияние запоздалого сбора урожая (в конце октября) приводит к уменьшению доли листьев и увеличению доли стеблей. Этот факт дает основание предложить проведение сбора урожая в конце сентября.

Выводы: 1. Климатические условия Арагатской долины благоприятны для выращивания каланхоэ как однолетней культуры с ежегодным культивированием посадочного материала.

2. Производство посадочного материала каланхоэ целесообразно и перспективно проводить сопряженным методом гидропоники и в культуре *in vitro*.

3. Установлена возможность быстрого получения исходного посадочного материала детками и методом клонального микроразмножения в культуре *in vitro*. Метод же микроразмножения в сочетании с методом термотерапии обеспечивает не только размножение, но и оздоровление. При этом коэффициент размножения микрочеренков за один пассаж, в среднем, составляет 1 : 5.

4. На основе сопряженного метода гидропоники и клонального микроразмножения в культуре *in vitro* разработана система охватывающая этапы

от выбора исходного до производства посадочного материала. Метод дает возможность круглогодично выращивать растения в фитокамере, а в весенне-осенний сезоны размножать и получать лекарственное сырье в открытой гидропонике.

Sargsyan E.D., Vardanyan A.P.

CULTIVATION OF *Kalanchoe pinnata* UNDER CONDITIONS OF THE ARARAT VALLEY BY IN VITRO AND HYDROPONICS METHOD

Summary

The system has been developed on the basis of combined method of hydroponics and clonal micro-propagation in *in vitro* culture from a choice of initial up to production of the planting material. The coefficient of multiplication of micro-plants is 1:5. The method gives a chance for the propagation of plants the whole year in phyto-chamber and in open-air hydroponics in spring and in autumn to cultivate, multiply and to get the medicinal raw material of *Kalanchoe pinnata*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дадаева М.Д. Биологические особенности каланхоэ перистого и фитотехнология его возделывания на лекарственное сырье в условиях гидропонии на Араратской равнине.//Автореф. канд. дис., Ереван, 1989, 23с.
2. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. М., Колос, 1968, 416с.
3. Евтушенко А.И. Изучение антивирусных свойств растений рода каланхоэ в эксперименте.//Автореф.канд.дис., Киев, 1982, 19 с.
4. Катаева Н.В., Бутенко Р.Г. Клональное микроразмножение растений, М.: Наука, 1983, 96с.
5. Куник Р.В., Зузук Б.М. Каланхоэ перистое. <http://www.provisor.com.ua/archive/2004/N4 art27.htm>.
6. Мазнев Н.И. Энциклопедия лекарственных растений. 3-е изд., М.: Мартин, 2004, с.193-195.
7. Машковский М.Д. Лекарственные средства, т. 2, Харьков, "Торсинг", 1998, с.182.
8. Саркисян Э.Д., Научные основы биотехнологии производства посадочного материала декоративных, технических и других растений в условиях гидропонии и культуре *in vitro* //Автореф. докт. дис., Абовян 2001, 50с.
9. Саркисян Э.Д. Разработка биотехнологии производства растительного лекарственного сырья и препарата каланхоэ перистого в Армении. //XIV Международный симпозиум "Нетрадиционное растениеводство, экология и здоровье", Симферополь 2005, с.716-719.
10. Шретер А.И., Муравьева Д.А., Пакалин Д.А., Ефремова Ф.В. Лекарственная флора Кавказа, М. 1979, с.113-117.
11. Չ.Ս.Դավթյան, Ս.Խ.Մարտիրոսյան. Կարդարույր խորհրդուն անհող արտադրությունը, Երևան; 1976, էջ 18-19.
12. Murashige T., Scoog F. A revised medium for rapid growen and bioassay with tabaco tissue culture. Phisiol. pant. 1962, v.15, p. 473-497.
13. Sarkisyan E.D., Mairapetyan S.Kh., Tambyan N.M. Development of biotechnology of some technical by plants hydroponic and microclonal combined method// II International Simposium on Plant Biotechnology, Kyev, 1998, p.83.