

DOI:10.26104/NTTIK.2023.10.31.010

Медербекова Д.М., Асанакунов Б.А.

**TRIGONELLA FOENUM-GRAECUM ӨСҮМДҮКТӨРҮН IN VITRO  
МАДАНИЯТЫНА КИРГИЗҮҮ ШАРТТАРЫН ОПТИМАЛДАШТЫРУУ**

Медербекова Д.М., Асанакунов Б.А.

**ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ВВЕДЕНИЯ В КУЛЬТУРУ IN VITRO  
РАСТЕНИЙ TRIGONELLA FOENUM-GRAECUM**

D. Mederbekova, B. Asanakunov

**OPTIMIZATION OF THE CONDITIONS FOR INTRODUCING  
TRIGONELLA FOENUM-GRAECUM PLANTS INTO IN VITRO CULTURE**

УДК: 582.099:582.3/99(575.2) (04)

*Trigonella foenum-graecum* (чемен чөбү) – экинчилик метаболизмдердин курамына байланыштуу дары чийки заты катары колдонулган буурчак тукумундагы бир жылдык өсүмдүк. Бул изилдөөдө *Trigonella foenum-graecum* өсүмдүктү *in vitro* маданиятына киргизүү үчүн оптималдуу шарттарды аныктоо боюнча эксперименттер жүргүзүлдү. Үрөндүн өнүп чыгышынын көрсөткүчтөрүн, өсүмдүктөрдүн өсүү темптерин, сабактарынын жана тамырларынын санын, ошондой эле экспланттардын өсүшүнө фитогормондордун таасирин изилдедик. Натыйжалар уруктар гормонсуз MS чөйрөсүндө жашоого жөндөмдүү жана жакшы өскөн көчөттөрдү бергенин көрсөттү. NAA жана BAP фитогормондорунун кошулушу экспланттардын тез өсүшүнө алып келди. Экспланттардын жашоосу үчүн фитогормондордун оптималдуу катышы 1,5 мг/л БАП жана 0,5 мг/л NAA. Эксперименттин натыйжалары бул ыкманы *T. foenum-graecum* өсүмдүктөрүн *in vitro* маданиятында массалык түрдө өстүрүү үчүн колдонуу мүмкүнчүлүгүн көрсөтүп турат.

**Негизги сөздөр:** маданият чөйрөсү, фитогормондор, ауксин, цитокинин, микрокөбөйүү, өсүмдүктөр.

*Trigonella foenum-graecum* (пажитник сенной) является однолетним растением семейства бобовые, находящим применение как лекарственное сырье благодаря составу вторичных метаболитов. В настоящем исследовании эксперименты были проведены для определения оптимальных условий введения растения *Trigonella foenum-graecum* в культуру *in vitro*. Нами были изучены показатели всхожести семян, скорость роста растений, количество стеблей и корней, а также влияние фитогормонов на рост эксплантов. Результаты показали, что на безгормональной питательной среде MS семена дают жизнеспособные и хорошо растущие проростки. Добавление фитогормонов НУК и БАП привело к ускорению роста эксплантов. Оптимальное соотношение фитогормонов для выживания эксплантов составляет 1,5 мг/л БАП и 0,5 мг/л НУК. Результаты эксперимента показывают возможность использования данного метода для массового разведения растений *T. foenum-graecum* в культуре *in vitro*.

**Ключевые слова:** питательная среда, фитогормоны, ауксин, цитокинин, микроклональное размножение, растения.

*Trigonella foenum-graecum* (fenugreek) is an annual plant in the legume family that is used as a medicinal herb due to its secondary metabolite composition. In this study, experiments were conducted to determine the optimal conditions for introducing *Trigonella foenum-graecum* into *in vitro* culture. We examined indicators of seed germination, plant growth rate, number of stems and roots, and the influence of phytohormones on explant growth. The results showed that on hormone-free MS nutrient medium, seeds produced

viable and well-growing seedlings. Adding phytohormones NAA and BAP accelerated explant growth. The optimal ratio of phytohormones for explant survival is 1.5 mg/l BAP and 0.5 mg/l NAA. The experiment's results demonstrate the possibility of using this method for mass cultivation of *T. foenum-graecum* plants in *in vitro* culture.

**Key words:** culture medium, *in vitro*, phytohormones, auxin, cytokinin, micropropagation, plant.

**Актуальность темы.** *Trigonella foenum-graecum* (пажитник сенной), или пажитник сенной, является важным лекарственным растением, принадлежащим к семейству бобовых [1]. Семена и листья пажитника сенного используются в качестве лекарственного средства и в кулинарии. На сегодняшний день был проведен ряд исследований по фитохимическому анализу различных частей растения пажитника сенного, а также по изучению их лечебных свойств. Было показано, что он обладает многочисленными терапевтическими свойствами, такими как противораковые, противовоспалительные, антимикробные и антидиабетические характеристики [2]. Он также хорошо известен своей высокой антиоксидантной эффективностью благодаря высокому содержанию флавоноидов [3]. В настоящее время в фитотерапии и медицине используется более 50 000 видов растений. Около 2/3 из них добывается в природе, что приводит к локальному исчезновению многих видов или деградации их местообитаний. Биотехнологические методы открывают возможности не только для более быстрого клонирования и сохранения генотипа растений, но и для получения ценных веществ в больших количествах [4].

**Цель работы.** Настоящая работа проведена с целью подбора условий введения в культуру *in vitro* для микроразмножения пажитника сенного как способа наработки растительного сырья.

**Материалы и методы.** Семена пажитника, стерилизовали в 70% этиловом спирте в течение 30 сек, затем в 5,25% растворе гипохлорита натрия в течении 20 минут, после каждого этапа стерилизации семена 3 раза промывали стерильной дистиллированной водой. Затем семена сажали в банки для культивирования со средой MS [5] без добавления фитогормонов и инкубировали в помещении для культивирования при

22 ± 4°C в течении пяти недель при 16-часовом фото-периоде. Процент всхожести, длину побегов, количество стеблей и количество корней регистрировали еженедельно.

Полученные экспланты использовались для пересадки на питательную среду MS с добавлением фитогормонов для микроразмножения. Срез черенков делали с помощью скальпеля в стерильных условиях в ламинарном боксе. Культивировали по 8-9 эксплантов в каждой банке, где содержалась среда MS с раз-

личными концентрациями ауксина НУК (0,5; 1,0; 1,5) и цитокинина БАП (0,5; 1,0; 1,5). Экспланты культивировали в стерильных банках, каждая из которых содержала 50 мл питательной среды, при 22 ± 4°C при 16 – часовом фотопериоде (30 мкМоль мс).

**Результаты и их обсуждение.** Первым этапом введения в культуру является стерилизация семян и их посадка в банки с твердой питательной средой. Результаты прорастания растений *T. foenum-graecum* приведены в таблице 1.

Таблица 1

Всхожесть семян *T. foenum-graecum* на среде MS

№ п/п	Посеяно семян, шт.	Число проросших семян, шт.	Всхожесть, %
1.	6	4	66,6
2.	6	4	66,6
3.	6	5	83,3
4.	6	5	83,3
5.	6	3	50
6.	6	2	33,3
Среднее		3,8	63,8±9,1

Из 36 посеянных семян растения *T. foenum-graecum* - проросли 23, что составляет 63,8%. Доля проросших семян выше среднего и удовлетворительна при введении в культуру *in vitro*. Разброс значений вокруг среднего значения может быть вызван различными факторами, такими как качество семян, условия выращивания и др. [6].

Для выяснения характера роста растений *T. foenum-graecum* в условиях культуры была определена скорость роста растений. График скорости роста растений (рис. 1) показывает, что растения *T. foenum-graecum* в первые две недели роста в среднем имели невысокий прирост растений, что может быть обусловлено тем, что растения переживали период адаптации к условиям культуры *in vitro* [7].

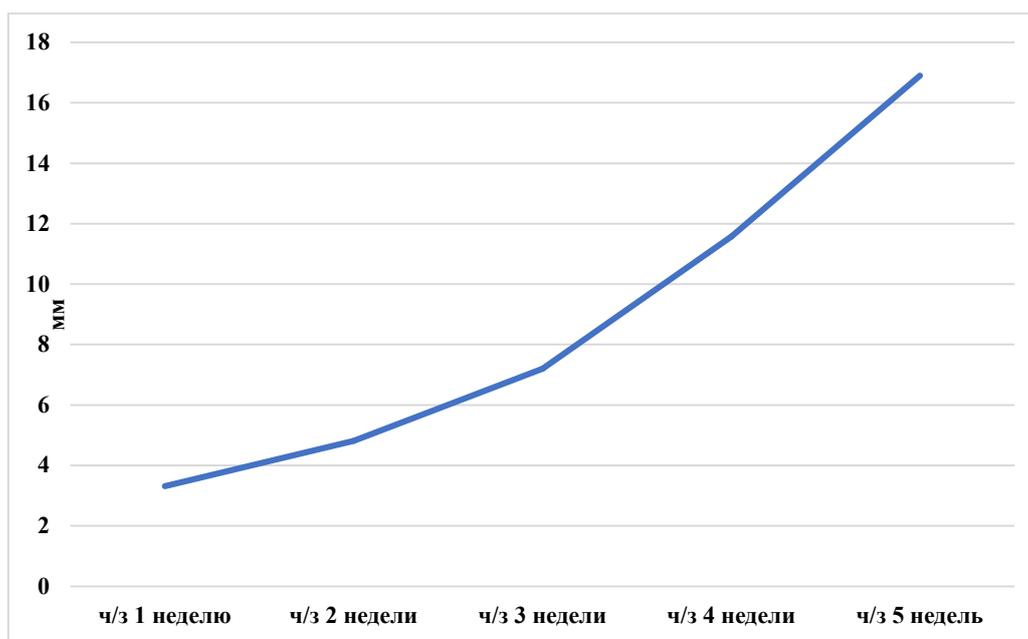


Рис. 1. График роста побегов *T. foenum-graecum*.

Начиная с третьей недели растения ускорили свой рост, что говорит о том, что растения смогли адаптироваться к условиям питательной среды и ускорили свой рост.

Результаты эксперимента показали, что семена растений *T. foenum-graecum*, посаженные на безгормональную питательную среду МС, дают жизнеспособные и хорошо растущие проростки, которые могут достигать значительной длины.

Растения одного вида обладают различным потенциалом для формирования надземной подземной частей. Для выявления потенциала полученных нами растений было подсчитано количество стеблей и корней на каждом растении (табл. 2).

Растения одного вида обладают различным потенциалом для формирования надземной подземной частей. Для выявления потенциала полученных нами растений было подсчитано количество стеблей и корней на каждом растении (табл. 2).

Таблица 2

№ п/п	Рост растений, мм (1)	Кол-во стеблей, шт. (2)	Кол-во корней, шт. (3)
1.	17,6	2,6	4
2.	18	2,3	3,6
3.	12	2	1
4.	19,3	2,6	4,6
5.	20,5	4	5
6.	16,5	2,5	3,5
<b>Корреляция</b>		$r_{1,2}=0,74$	$r_{1,3}=0,98;$ $r_{2,3}=0,72$

Из данных таблицы 2 следует, что наибольший рост растений наблюдался в повторностях №5 (20,5 мм) и №4 (19,3 мм).

Среднее значение количества стеблей различалось во всех повторностях. Наибольшее среднее значение количества стеблей наблюдалось в повторности №5 (4 стебля на растение), а наименьшее количество в повторности №3 (2 стебля на растение).

Отмечалась определенная зависимость между ростом растений, количеством стеблей и корней. Повторности с большим количеством стеблей на одно растение часто имели большее количество корней, что подтверждается достаточно высоким значением коэффициента корреляции (0,72). Схожая зависимость наблюдалась между ростом растений и количеством стеблей: более высокие растения имели большее количество стеблей ( $r=0,74$ ). Наиболее высокая корреляция ( $r=0,98$ ) была между ростом растений и количеством корней (табл. 2).

Поскольку все растения находились в одинаковых условиях выращивания, то, вероятно, различия в соотношении между ростом проростков, количеством стеблей и количеством корней на одно растение обусловлены генетическими различиями, которые позволили некоторым растениям более успешно приспособиться к условиям культуры *in vitro* [8].

После получения проростков, растения черенковались и пересаживались на питательную среду МС с добавлением ауксина НУК и цитокинина БАП в различных концентрациях (табл. 3).

После получения проростков, растения черенковались и пересаживались на питательную среду МС с добавлением ауксина НУК и цитокинина БАП в различных концентрациях (табл. 3).

Таблица 3

Высота эксплантов на среде МС с различными концентрациями НУК и БАП, мм

№ п/п	Концентрация гормонов	Возраст, недель		
		1	2	3
1.	НУК 0,5 мг/л + БАП 1,5 мг/л	9,7	10,6	12,5
2.	НУК 1,0 мг/л + БАП 1,0 мг/л	14,4	15,3	17,5
3.	НУК 1,5 мг/л + БАП 0,5 мг/л	7,8	8,4	9,8

Данные показывают, что оптимальной концентрацией гормонов НУК и БАП в питательной среде МС для роста растений *T. foenum-graecum* была 1,0 мг/л для каждого гормона. Хотя высокое содержание БАП может ускорять рост растений, это может быть нежелательным из-за возможных негативных эффектов на клетки растения. При этом, высокое содержание НУК не оказывает оптимального влияния на рост растений при низком содержании БАП. В целом, поддержание сбалансированной концентрации гормонов является ключевым фактором для успешного роста растений *T. foenum-graecum* в условиях питательной среды МС.

Влияние концентраций НУК и БАП на прорастание

№	Регуляторы роста, мг/л	Кол-во эксплантов, шт.	Кол-во побегов, шт.	Прорастание, %
1.	0,5 мг/л НУК + 1,5 мг/л БАП	19	18	94,7
2.	1,0 мг/л НУК + 1,0 мг/л БАП	15	11	73,3
3.	1,5 мг/л НУК + 0,5 мг/л БАП	19	9	47,3

В таблице 4 представлены данные выживаемости эксплантов на питательных средах с различными концентрациями НУК и БАП. В вариантах №1 и №2, где БАП присутствовал в большем количестве (1,5 мг/л и 1,0 мг/л), выживаемость эксплантов была более высокой. В третьем варианте, где соотношение фитогормонов было обратным (1,5 мг/л НУК и 0,5 мг/л БАП), выживаемость эксплантов была менее эффективной. В нашем эксперименте БАП оказался более эффективен в стимуляции прорастания и выживания эксплантов, чем НУК. Оптимальное соотношение фитогормонов для прорастания и выживания эксплантов для растений *T. foenum-graecum* составило 1,5 мг/л БАП и 0,5 мг/л НУК.

Большой процент выживания эксплантов говорит о возможности использования данного метода для массового размножения растений *T. foenum-graecum* с помощью *in vitro* [9].

В целом, результаты проращивания семян *T. foenum-graecum* показывают, что это растение может быть выращено из семян на питательной среде МС. Однако для более точной оценки его возможностей нужно провести исследования с различными условиями выращивания.

**Выводы:**

1. Семена растения *T. foenum-graecum* довольно хорошо (63,8%) прорастают в условиях культуры *in vitro*, что позволяет использовать этот метод для массового размножения растений.

2. Ускорение роста растений начинается с третьей недели выращивания, что свидетельствует об их адаптации к условиям питательной среды.

3. Наиболее оптимальной концентрацией гормонов НУК и БАП в питательной среде МС для роста растений *T. foenum-graecum* была 1,0 мг/л для каждо-

го гормона.

4. Оптимальное соотношение фитогормонов для прорастания и выживания эксплантов для растений *T. foenum-graecum* составило 1,5 мг/л БАП и 0,5 мг/л НУК.

**Литература:**

- Anwar S. et al. Antidiabetic Activities of Fenugreek (*Trigonella Foenum-Graecum*) Seeds (2011).
- K. Avni et al. Nutritional and antioxidant components of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) seedlings J. Pharmacogn. Phytochem. (2019).
- Julsing K.M., Quax W.J., Kayser O. Инженерия лекарственных растений: перспективы и ограничения биотехнологии лекарственных растений. В: Kayser O., Quax W.J., редакторы. / Биотехнология лекарственных растений: от фундаментальных исследований к промышленным применениям. - Уайли, 2007. - С. 1-8.
- Морякина В.А., Свиридова Т.П., Беляева Т.Н., Степанюк Г.Я., Амельченков В.П., Зиннер Н.С. Сохранение растительного биоразнообразия флоры Сибирского ботанического сада. Томского гос.университет, Nespapers BOG&C . 2008 г.; 12 (4): 555-562.
- Murashige, T. & Skoog, F. 1962 A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures Physiol. Plant. 15 473 49
- Kibinza S. Et al. Seed priming: state of the art and new perspectives. // Seed Science Research. 2011;21(1):1-15.doi: 10.1017/s 0960258510000182.
- Schuyler Suley. Hormonal Transudation of Environmental stresses.// Hort. Sci., 1990. Vol. 25. № 11. P. 1303-1365.
- Ferreira, K.A., and De Boer, G.J. (1995). Genetic variation in plants regenerated in vitro. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 41(1): 1-25.
- Ali A., M.S. Khan, and A.M. Shah. «In vitro propagation of *Trigonella foenum-graecum* L. Through axillary shoot proliferation» Pakistan Journal of Botany 47.2 (2015): 605-610.
- Асанакунунов Б.А., Токтоматова Д.С. Сравнительный анализ биохимических показателей крови и мочи при патологии почек. / Наука, новые технологии и инновации Кыргызстана. 2021. №. 4. - С. 80-82.