

Н.В. Ромаданова¹, М.М. Аралбаева¹, Н.К. Рымханова¹, Д.Ш. Байгараев²,
А.К. Рамазанов², М.Ю. Ишмуратова^{2*}, С.В. Кушнарченко¹

¹Институт биологии и биотехнологии растений, Алматы, Казахстан;

²Карагандинский университет им. академика Е.А. Букетова, Караганда, Казахстан

*Автор для корреспонденции: margarita.ishmur@mail.ru

Криоконсервация как способ повышения лабораторной всхожести и энергии прорастания семян

В Казахстане и во всем мире существует проблема утраты биоразнообразия растительных ресурсов. Поэтому ведутся работы по созданию криогенных банков, в которых проводится длительное хранение гермоплазмы растений при сверхнизкой температуре $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Для семян, сохраняемых в криогенных банках, требуется изучение их состояния покоя и действия веществ, которые могли бы стимулировать их всхожесть. Важными объектами для исследования являются лекарственные растения, так как в Республике отсутствует отлаженная система промышленного выращивания лекарственных растений и производства фармацевтических препаратов на основе местного сырья. Поэтому требуется научная информация о долгосрочном сохранении жизнеспособного семенного материала и способах стимуляции прорастания семян. В результате проведенных экспериментов выявлено положительное влияние гибберелловой кислоты (ГК) и жидкого азота (ЖА) на увеличение процента энергии прорастания (ЭП) и лабораторной всхожести (ЛВ) семян лекарственных растений. В среднем, после воздействия ЖА на семена, увеличивался процент ЭП в 1,4 и ЛВ в 1,5 раза. После воздействия на семена ГК процент ЭП увеличивался в 1,2 раза, а ЛВ — в 2,9 раза. Выявлено, что для стимуляции ЭП и ЛВ достаточно обработки семян одним из способов, ГК или ЖА. Установлено, что семена расторопши пятнистой теряют всхожесть после хранения при температуре $1\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 9 месяцев. Возможно, для стимуляции ЭП и ЛВ требуется обработка химическими реагентами свежесобранных семян. Отмечена эффективность воздействия ЖА на ЭП в культуре *in vitro* семян валерианы лекарственной и ромашки аптечной сорт «Карагандинская» в 4,5 и в 1,8 раза соответственно. Процент ЛВ валерианы лекарственной после воздействия ЖА возрос в 1,3 раза, при этом не было отмечено влияния ЖА на ЛВ семян ромашки аптечной сорт «Карагандинская».

Ключевые слова: семена, лекарственные растения, криогенный банк, культура *in vitro*, энергия прорастания, лабораторная всхожесть.

Введение

В Казахстане произрастает порядка 500 видов лекарственных растений, однако многие из них находятся под угрозой исчезновения [1–4]. Учитывая глобальный характер проблемы, необходимо задействование научных подходов сохранения растительных ресурсов, например, таких как криоконсервация семян при температуре жидкого азота [5, 6]. Создание семенных банков — это важная задача для всего мирового сообщества. На данный момент насчитывается около 1750 генетических банков семян по всему миру, в которых сохраняется порядка 10000 образцов, в том числе лекарственных растений [7]. В Казахстане начаты работы по сохранению семян дикорастущих видов, включая лекарственные, в РГП «Институт ботаники и фитоинтродукции» КН МОН РК при температурах: $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ и $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$. [8]. В лаборатории криосохранения гермоплазмы РГП «Институт биологии и биотехнологии растений» КН МОН РК (ИББР), кроме режима $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ и $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, используется также технология криоконсервации при $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$, работа в области криоконсервации ведется с 2002 г. [9–12]. Криогенная коллекция ИББР насчитывает более 700 образцов, в том числе на хранение заложены и семена лекарственных растений [13, 14].

Важность криогенных коллекций заключается в том, что метод криоконсервации в жидком азоте позволяет остановить физиологические процессы в растительных клетках и обеспечить длительное хранение при сверхнизкой температуре [5, 6, 9–15]. Кроме того, семенам подавляющего большинства дикорастущих и культурных растений свойственно состояние органического покоя. Некоторые из них уже через несколько часов после сбора теряют свою всхожесть, а основная масса семян теряет всхожесть в процессе хранения, даже в условиях хранения при пониженных положительных температурах. У некоторых видов покой семян настолько глубок, что для прорастания им необходима длительная и

сложная предпосевная подготовка, при этом появление всходов может растянуться на несколько лет [5, 6, 16, 17].

В литературных источниках имеется достаточно много работ, касающихся возможности ускоренного прорастивания семян разных видов с помощью обработки гормонами и некоторыми другими веществами, стимулирующими прорастание, а также с использованием ряда физических воздействий, в том числе и действием пониженной температуры [11, 16, 18, 19]. Во многих исследованиях продемонстрировано стимулирующее действие сверхнизких температур на ЭП и ЛВ семян дикорастущих и культурных растений. Из 60 видов растений дальневосточного региона России криоконсервация не оказала отрицательного влияния на прорастание 56 видов (93,3 %), а для 13 видов (21,7 %) ультранизкие температуры стимулировали всхожесть семян [20]. Положительное влияние глубокого замораживания было показано для семян дикорастущих видов семейства *Roaceae*, яблони Сиверса и риса [10, 11, 21].

Целью настоящей работы являлось исследование действия различных стимуляторов на лабораторную всхожесть (ЛВ) и энергию прорастания (ЭП) семян лекарственных растений: валерианы лекарственной (*Valeriana officinalis* L.), льна многолетнего (*Linum perenne* L.), расторопши пятнистой (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.) и ромашки аптечной (*Matricaria chamomilla* L.) сортов «Карагандинская» и «Подмосковная» для последующего создания криобанка. Важность данного исследования заключается в том, что широко известны лекарственные свойства этих растений. Например, валериана лекарственная применяется в качестве седативного средства и как спазмолитик (в отношении гладкой мускулатуры органов желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) и мочевыделительной системы). Обладает также желчегонным действием, увеличивает секрецию ЖКТ, расширяет коронарные сосуды. Семена льна многолетнего применяются при лечении сахарного диабета, язв, желудочно-кишечных и мочеполовых заболеваний, невралгии ожогов, сердечно-сосудистых заболеваний, лен нормализует артериальное давление, снижает уровень холестерина, устраняет аритмию и уменьшает риск развития инфаркта, инсульта и т.д. Препараты из расторопши пятнистой применяются для лечения болезней печени, селезенки, при желчных камнях, желтухе, хроническом кашле и других заболеваниях. Настои и отвары цветочных корзинок ромашки и её эфирное масло применяют как желудочное, противовоспалительное, спазмолитическое, кровоостанавливающее, потогонное, антисептическое, болеутоляющее, седативное, противосудорожное, желчегонное средство, для лечения бронхиальной астмы, ревматизма, аллергических гастритов и колитов, экземы, ожогов рентгеновскими лучами и др. [2, 3, 22].

Во многих странах для производства лекарственных препаратов налажен промышленный сбор этих дикорастущих растений, организованы культурные посадки из семян, собранных в природных условиях и сортов, выведенных селекционерами [23]. Производителями фитопродукции в Казахстане являются компании «Зерде-Фито» и «Кызылмай», работающие в основном на привозном сырье [24, 25]. Единственным предприятием в стране, которое занимается сбором и выращиванием лекарственных растений в промышленных масштабах, является ТОО «Azia Gold» [26]. ТОО «Azia Gold» совместно с компанией Martin Bauer GmbH & Co.KG в 2019 г. планировали открытие завода по переработке лекарственных трав, но планы были отложены в связи с пандемией COVID-19.

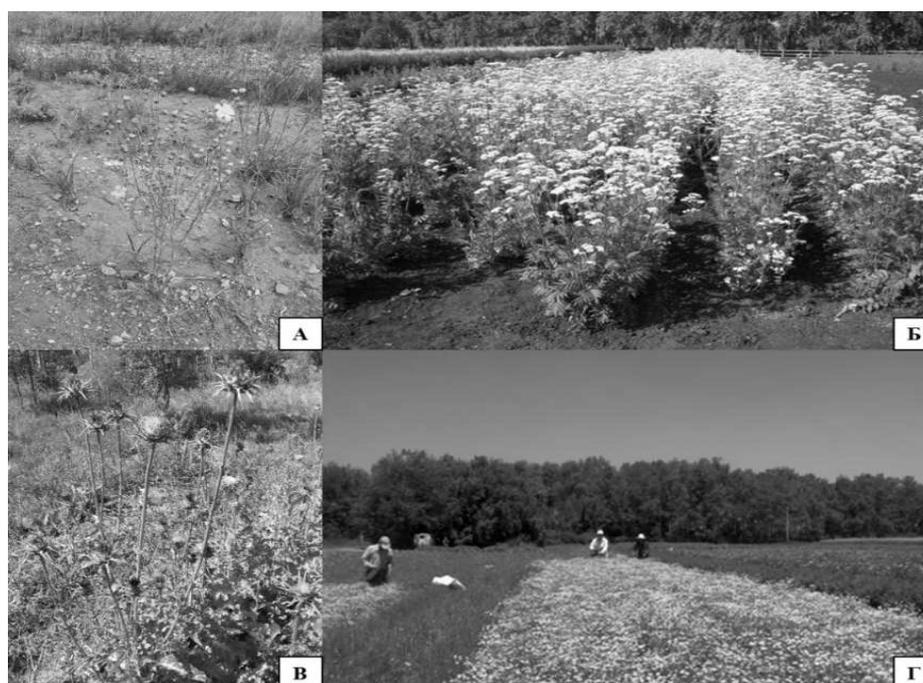
В связи со всем изложенным выше, выявлено, что в Казахстане не налажены системы выращивания лекарственных растений в промышленных масштабах и производства лекарственных препаратов на основе местного сырья. Для производителей, кроме вложений в технологию производства, требуется также научная информация о долгосрочном сохранении жизнеспособного семенного материала, а также данные о способах стимуляции энергии прорастания семян. Настоящая статья посвящена этому исследованию.

Материалы и методы

Сбор семян валерианы лекарственной, льна многолетнего, расторопши пятнистой и ромашки аптечной сортов «Карагандинская» и «Подмосковная» проводился в августе–сентябре 2020 г. (см. табл.; рис. 1). Хранение образцов проводили в бумажной упаковке, при температуре 1 ± 1 °С в программируемом холодильнике Indesit DF 5201 X RM. Срок хранения составил 9–10 месяцев.

Места сбора семенного материала для исследований

№	Вид	Место сбора	GPS координаты
1	Валериана лекарственная	Окрестности г. Караганды	49,79623 с.ш., 73,25428 в.д., высота 420 м над ур. м.
2	Лен многолетний	Горы Каркаралы, ущелье Тасбулак	49,44637 с.ш., 75,48398 в.д., высота 640 м над ур. м.
3	Расторопша пятнистая	Жезказганский ботанический сад	47,76526 с.ш., 67,78100 в.д., высота 411 м над ур. м.
4	Ромашка аптечная, сорт «Карагандинская»	Питомник лекарственных растений, г. Караганда	49,79330 с.ш., 73,02354 в.д., высота 352 м над ур. м.
5	Ромашка аптечная, сорт «Подмосковная»		

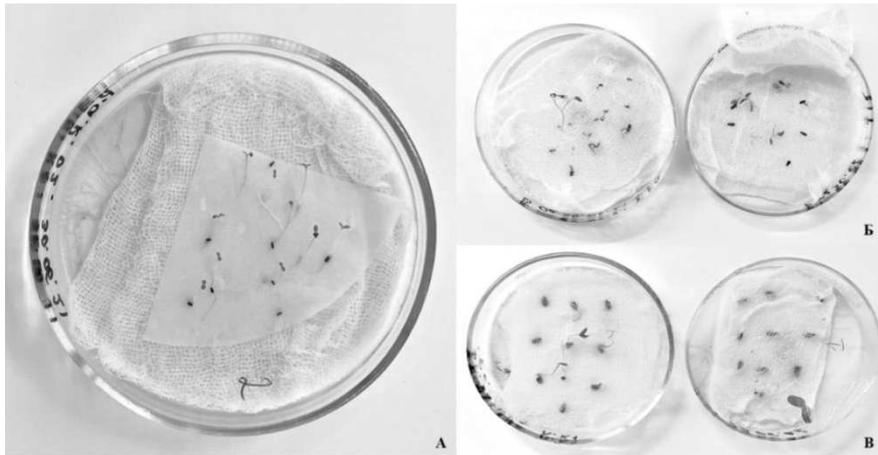


A — *Linum perenne*; Б — *Valeriana officinalis*; В — *Silybum marianum*;
Г — *Matricaria chamomilla* сорт «Подмосковная»

Рисунок 1. Сбор семян лекарственных растений

Для экспериментов семена разделили на партии по 10 шт. и проращивали, используя следующие предварительные обработки:

1. Для семян всех видов растений проводили проращивание семян с предварительным замачиванием их в дистиллированной воде в течение 4 ч, после чего воду сливали, семена промывали. В чашку Петри (ЧП) на дно складывали в 4-е слоя марлю, на которую выкладывали в один слой семена (рис. 2). Все семена, кроме ромашки, сверху накрывали 2-мя слоями марли, для семян ромашки необходимо попадание прямых лучей солнечного света [27]. Кроме того, семена ромашки очень мелкие со средними размерами 0,8–1,2×0,25–0,4 мм, поэтому для того, чтобы семена не упали между слоями, на марлю сверху помещали фильтровальную бумагу, на которую выкладывали семена (рис. 1А) [22, 23, 28]. Выложенные на марлю семена заливали дистиллированной водой так, чтобы нижняя часть семян была в воде, а верхняя часть не была погружена в воду. ЧП закрывали пищевой пленкой, в которой проделывали отверстия для аэрации. Контроль 1 (К1).



А — *Matricaria chamomilla* сорт «Карагандинская»; Б — *Valeriana officinalis*; В — *Linum perenne*

Рисунок 2. Проращение семян лекарственных растений через 12 суток

2. Для семян валерианы лекарственной, расторопши пятнистой и ромашки аптечной после замачивания в течение 4 ч в дистиллированной воде, как было описано выше, проводили обработку семян в растворе гибберелловой кислоты (ГК), в виду того что по литературным данным органические кислоты стимулируют ЭП у этих видов растений [16]. Для этого семена после замачивания и промывания погружали на 1 ч в ГК в концентрации 100 мг/л. После обработки ГК семена выкладывали в ЧП с марлей, как было описано выше, для проращивания. Контроль 2 (К2).

3. Проращивание семян валерианы лекарственной и ромашки аптечной проводили в культуре *in vitro*. Для этого семена предварительно обрабатывали раствором отбеливателя «Белизна» (гипохлорит натрия (5–15 %), щелочные компоненты <5 %, вода), разбавленного 1:4 в течение 5 мин. После чего в ламинарном боксе трижды промывали стерильной дистиллированной водой и помещали в пробирки по 5 шт. на питательную среду Кнопа (1 г/л $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 0,25 г/л $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,25 г/л K_2HPO_4 , 0,125 г/л KCl , 27,8 мг/л $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 37,3 мг/л $\text{Na}_2\text{ЭДТА} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 1,75 г/л джелрата, 4 г/л агара, pH 5,7) [29]. Контроль 3 (К3).

4. Семена всех исследуемых видов лекарственных растений без каких-либо предварительных обработок погружали на 18 ч в жидкий азот (ЖА) при температуре -196°C . Размораживание проводили при температуре 4°C в течение 30 мин, затем еще 30 мин при комнатной температуре. После чего семена замачивали в дистиллированной воде в течение 4 ч, промывали и ставили на проращивание в ЧП с марлей, как было описано выше. Опыт 1 (О1).

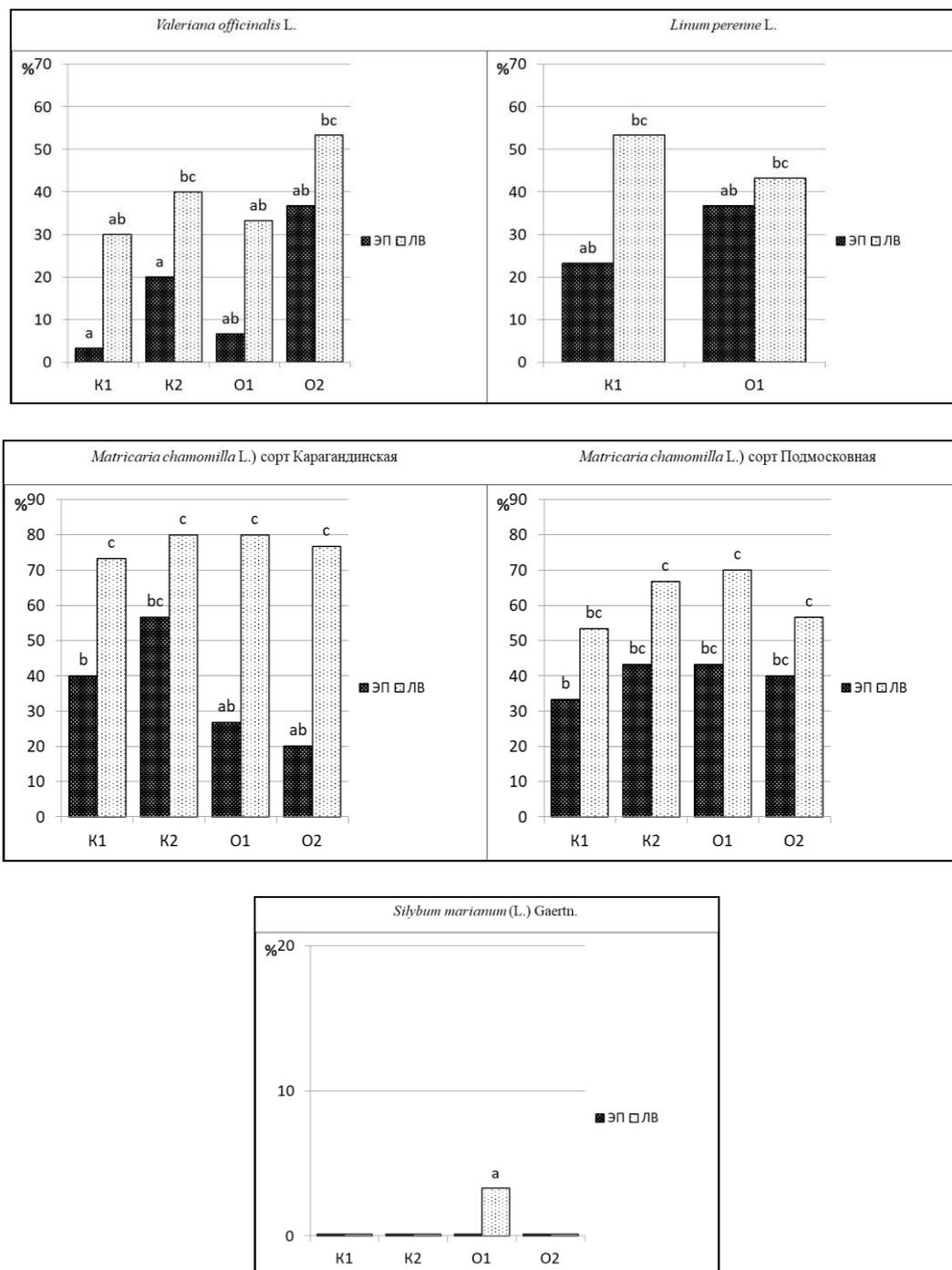
5. Семена валерианы лекарственной, расторопши пятнистой и ромашки аптечной обоих сортов погружали на 18 ч в ЖА, после процедуры оттаивания проводили замачивание в течение 4 ч и обработку в растворе ГК (100 мг/л). Проращивали в ЧП, как было описано выше. Опыт 2 (О2).

6. Семена валерианы лекарственной и ромашки аптечной сорт «Карагандинская» погружали на 18 ч в ЖА, после процедуры оттаивания проводили стерилизацию в ламинарном боксе раствором отбеливателя «Белизна» (1:4) в течение 5 мин, трижды промывали стерильной дистиллированной водой и помещали в пробирки по 5 шт. на питательную среду Кнопа. Опыт 3 (О3).

Жизнеспособность семян оценивали по ЭП проценту проросших семян на 3 сутки и по ЛВ проценту проросших семян на 7 сутки [11]. Эксперименты проводили в 3-х повторностях ($n = 30$). Статистическую обработку экспериментальных данных проводили по методике, описанной в пособии Г.Ф. Лакина, и в программном пакете SYSTAT [30, 31].

Результаты и обсуждение

В результате проведенных экспериментов выявлено, что обработка семян раствором гибберелловой кислоты и жидким азотом стимулирует и энергию прорастания, и лабораторную всхожесть семян всех изучаемых растений (рис. 3).



K1 — проращивание семян без дополнительной обработки; *K2* — проращивание семян после обработки в растворе ГК (100 мг/л) в течение 1 ч; *O1* — проращивание семян после экспозиции в ЖА в течение 18 ч; *O2* — проращивание семян после экспозиции в ЖА в течение 18 ч и обработке в растворе ГК (100 мг/л) в течение 1 ч

Рисунок 3. Влияние гибберелловой кислоты и жидкого азота на энергию прорастания и лабораторную всхожесть семян лекарственных растений

Самый высокий процент ЭП и ЛВ после обработки ГК и ЖА был отмечен у сортов ромашки. В меньшей степени возрастает процент ЭП у льна многолетнего, ЛВ семян этого растения после обработки ЖА несколько ниже (43,3 %), чем ЛВ без обработки (53,3 %), тем не менее статистическая разница между вариантами недостоверна. Следует отметить, что достаточно обработки только ГК или только ЖА для стимуляции ЭП и ЛВ у семян всех исследуемых растений, единственно у валерианы лекарственной отмечено возрастание ЭП и ЛВ при одновременной обработке ГК и ЖА. Так ЭП при

обработке семян этого растения ГК (К2) составила 20,0 %, а при обработке и ГК и ЖА — 36,7 (О2), после погружения семян в ЖА ЭП составила 6,7 % (О1), что в 5,5 раз меньше, чем после обработки и ГК и ЖА. ЛВ семян валерианы после обработки ГК была 40,0 %, при обработке и ГК и ЖА увеличилась для 53,3 %, ЛВ после обработки ЖА — 33,3 %, тогда как после действия гормона и азота составила 53,3 %.

Как уже говорилось ранее, семена подавляющего большинства дикорастущих и культурных растений теряют всхожесть по прошествии какого-то времени даже в условиях хранения при пониженных положительных температурах. В нашем случае у семян расторопши пятнистой после хранения при температуре $1 \pm 1^\circ\text{C}$ в течение 9 месяцев всхожести не наблюдалось, только после обработки ЖА было отмечено, что одно семя возшло. В данном случае требуется пересмотреть ее условия хранения, возможно, для семян этого растения для сохранения всхожести требуется погружение в ЖА сразу после сбора.

Для семян валерианы лекарственной и ромашки аптечной, сорт «Карагандинская», было проведено проращивание семян в культуре *in vitro* (рис. 4, 5).



А — *Valeriana officinalis*; Б — *Matricaria chamomilla* сорт «Карагандинская»

Рисунок 4. Проращивание семян лекарственных растений в культуре *in vitro* через 12 суток после посадки на питательной среде Кнопа

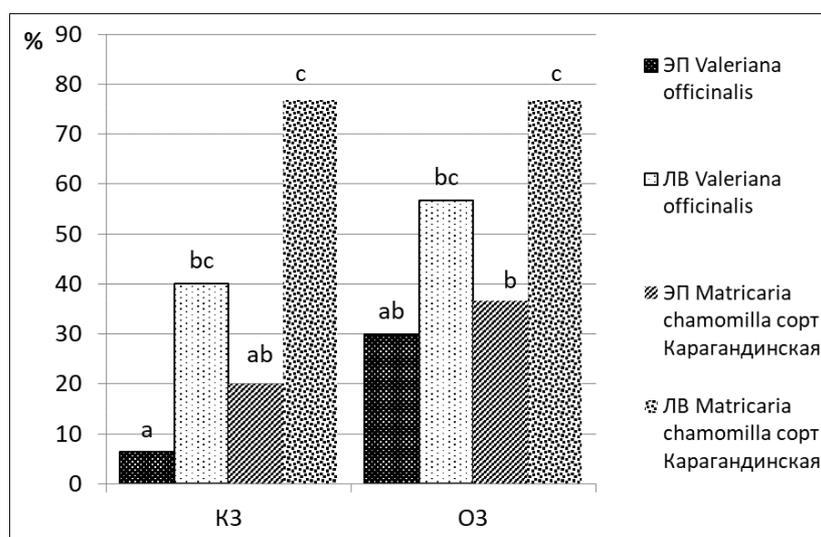


Рисунок 5. Влияние жидкого азота на энергию проращивания и лабораторную всхожесть в культуре *in vitro* семян лекарственных растений

Отмечено, что погружение в ЖА семян этих растений положительно сказывается на ЭП и ЛВ в культуре *in vitro*. Так, у валерианы лекарственной ЭП без обработки ЖА составила 6,7 %, тогда как после ЖА — 30,0 %, ЛВ этого растения до обработки была 40,0 % после ЖА — 53,3 %. У ромашки аптечной ЭП до обработки составила 20,0 %, после ЖА — 36,7 %, при этом влияния ЖА на ЛВ отмечено не было.

Заключение

Выявлено положительное влияние гибберелловой кислоты и жидкого азота на стимуляцию энергии прорастания и лабораторной всхожести семян лекарственных растений. В среднем процент ЭП после воздействия ЖА на семена увеличивался в 1,4 раза, ЛВ — в 1,5 раза. Процент ЭП после воздействия ГК на семена увеличивался в 2,9 раза, ЛВ — в 1,2 раза. При этом для стимуляции ЭП и ЛВ достаточно обработки семян или ГК или ЖА для всех исследуемых растений, так как разницы между вариантами не наблюдалось, только у валерианы лекарственной отмечено возрастание ЭП и ЛВ при одновременной обработке ГК и ЖА.

Установлено, что семена расторопши пятнистой теряют всхожесть после хранения при температуре 1 ± 1 °С в течение 9 месяцев. Требуется провести эксперименты по определению ЭП и ЛВ семян сразу после сбора, возможно, для стимуляции ЭП и ЛВ необходима будет обработка химическими ре-агентами свежесобранных семян.

Отмечено, что экспозиция в ЖА в течение 18 ч положительно повлияла на ЭП в культуре *in vitro* семян валерианы лекарственной и ромашки аптечной, сорт «Карагандинская». Так, процент ЭП у валерианы лекарственной после обработки ЖА возрос в 4,5 раза, а ромашки аптечной — в 1,8 раза. Процент ЛВ валерианы лекарственной после воздействия ЖА возрос в 1,3 раза, влияния ЖА на ЛВ ромашки аптечной, сорт «Карагандинская» отмечено не было.

Работа выполнена в рамках грантового проекта Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан: AP09259548 «Криоконсервация семенного материала дикорастущих и лекарственных растений и организация банка краткосрочного и долгосрочного хранения».

Список литературы

- 1 Флора Казахстана. — Т. 7. — Алма-Ата: Наука, 1964. — 345 с.
- 2 Доброхотова К.В. Лекарственные растения Казахстана / К.В. Доброхотова, В.В. Чудинов. — Алма-Ата: Казах. гос. изд-во, 1961. — 109 с.
- 3 Грудзинская Л.М. Аннотированный список лекарственных растений Казахстана: справоч. изд. / Л.М. Грудзинская, Н.Г. Гемеджиева, Н.В. Нелина, Ж.Ж. Каржаубекова. — Алматы, 2014. — 200 с.
- 4 Красная книга Казахстана. — Т. 2. Растения. — Астана: ТОО «Арт Print XXI», 2014. — 452 с.
- 5 Dixit S. Cryopreservation: a potential tool for long-term conservation of medicinal plants / S. Dixit S., S. Ahuja A. Narula, P.S. Srivastava // Plant Biotechnology and Molecular Markers. — New-Delhi: Anamaya Publisher, 2004. — P. 278–288. https://doi.org/10.1007/1-4020-3213-7_19
- 6 Chen S.-L. Conservation and sustainable use of medicinal plants: problems, progress and prospects / S.-L. Chen, H.-M. Luo, Q. Wu, C.-F. Li, A. Steinmetz // Chinese Medicine. — 2016. — Vol. 11, No. 37. — P. 2–10. <https://doi.org/10.1186/s13020-016-0108-7>
- 7 [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <http://www.fao.org/3/i1500r/i1500r03.pdf8>
- 8 [Электронный ресурс]. — Режим доступа: https://botsad.kz/ru/labs/view/laboratoriya_semenovodstva
- 9 Ромаданова Н.В. Сохранение генетического материала некоторых видов барбариса в криобанке / Н.В. Ромаданова, Л.Н. Карашолакова, И.А. Махмутова, Ф.Д. Кабулова, К.Т. Абидкулова, С.В. Кушнарченко // Вестн. Караганд. ун-та. Сер. Биология. Медицина. География. — 2019. — № 3(95). — С. 20–26.
- 10 Kushnarenko S. Characterization and Cryopreservation of *Malus sieversii* Seeds / S. Kushnarenko, E. Salnikov, M. Nurtazin, Z. Mukhitdinova, I. Rakhimbaev, B.M. Reed // The Asian and Australasian Journal of Plant Science and Biotechnology. — 2010. — Vol. 4, Spec. Iss. 1. — P. 5–9.
- 11 Кушнарченко С.В. Криоконсервация семян. Методические рекомендации / С.В. Кушнарченко, З.Р. Мухитдинова, М.М. Аралбаева. — Алматы: TST-Company, 2011. — 33 с.
- 12 Reed B.M. Evaluation of critical points in technology transfer of cryopreservation protocols to international plant conservation laboratories / B.M. Reed, I. Kovalchuk, S. Kushnarenko, A. Meier-Dinkel, K. Schoenweiss, S. Pluta, K. Straczynska, E.E. Benson // CryoLetters. — 2004. — Vol. 25, No. 5. — P. 341–352.
- 13 Ромаданова Н.В. Каталог коллекции *in vitro*, криобанка и саженцев яблони, лесного и грецкого орехов / Н.В. Ромаданова, М.А. Жексембекова, М.М. Аралбаева, Т.Е. Толеген, Т.Е. Кокен, М.М. Нурманов, С.В. Кушнарченко. — Алматы, 2020. — 58 с.

- 14 Romadanova N. Development of a common PVS2 vitrification method for cryopreservation of several fruit *in vitro* / N. Romadanova, S. Kushnarenko, L. Karasholakova // Cellular & Developmental Biology. — 2017. — Vol. 53, No. 4. — P. 382–393. <https://doi.org/10.1007/s11627-017-9849-y>
- 15 Medical plant conservation. — Vol. 14. — Ontario, 2011. — 36 p.
- 16 Николаева М.Г. Справочник по проращиванию покоящихся семян / М.Г. Николаева, М.В. Разумова, В.Н. Гладкова. — Л.: Наука, 1985. — 348 с.
- 17 Dowsett C.A. Adaption of a technique for the accelerated ageing of weed seeds to evaluate their longevity / C.A. Dowsett, T. James, P. Trivedi // New Zealand Plant Protection. — 2012. — Vol. 65. — P. 69–73. <https://doi.org/10.30843/nzpp.2012.65.5427>
- 18 Bewley J.D. Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination / J.D. Bewley, M. Black. — Berlin; Heidelberg; New York, 1982. — Vol. 2. — 375 p. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-68643-6>
- 19 Bareke T. Biology of seed development and germination physiology / T. Bareke // Plants & Agriculture Research. — 2018. — Vol. 8, Iss. 4. — P. 336–346. <https://doi.org/10.15406/apar.2018.08.00335>
- 20 Воронкова Н.М. Влияние глубокого замораживания на проращивание семян растений прибрежно-морских и прилегающих территорий Дальнего Востока России / Н.М. Воронкова, А.Б. Холина // Вестн. ДВО РАН. — 2016. — № 3. — С. 31–38.
- 21 Турдиев Т.Т. Способ восстановления жизнеспособности и повышения всхожести семян риса после длительного хранения / Т.Т. Турдиев, Л.К. Мамонов, И.Ю. Ковальчук, Б.Н. Усенбеков, Д.Т. Казкеев, С.М. Байбасынова, А.Б. Рысбекова, А.Н. Подольских // Инновационный патент РК на изобретение № 29084 от 17.07.2013.
- 22 Путырский И.Н. Универсальная энциклопедия лекарственных растений / И.Н. Путырский, В.Н. Прохоров. — М.: Махаон, 2000. — 656 с.
- 23 Терехин А.А. Технология возделывания лекарственных растений: учеб. пос. / А.А. Терехин, В.В. Вандышев. — М., 2008. — 201 с.
- 24 [Электронный ресурс]. — Режим доступа: https://damu.kz/klienty-fonda/detail.php?ELEMENT_ID=7873
- 25 [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <https://kyzylmay.com/>
- 26 Электронный ресурс. Режим доступа: https://www.emis.com/php/company-profile/KZ/Azia_Gold_Asia_Gold_TOO_Azia_Gold_%D0%90%D0%B7%D0%B8%D1%8F_%D0%93%D0%BE%D0%BB%D0%B4_%D0%A2%D0%9E%D0%9E_ru_8596189.html
- 27 [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <https://agbz.kz/kak-razvivat-biznes-na-travah/>
- 28 Губанов И.А. Иллюстрированный определитель растений Средней России. — Т. 3. Покрытосеменные (двудольные, раздельнолепестные) / И.А. Губанов, К.В. Киселева. — М.: КМК, 2004. — 520 с.
- 29 Кноп W. Quantitative untersuchungen über den ernährungsprozess der pflanze / W. Кноп // Landw. Versuchssat. — 1865. — Vol. 7. — P. 93.
- 30 Лакин Г.Ф. Биометрия: учеб. пос. для биол. спец. вузов / Г.Ф. Лакин. — М.: Высш. шк., 1990. — 352 с.
- 31 SYSTAT (2007) SYSTAT 12.0, SYSTAT Software, Inc, San Jose, CA, pp. Statistics software.

Н.В. Ромаданова, М.М. Аралбаева, Н.К. Рымханова, Д.Ш. Байгараев,
А.К. Рамазанов, М.Ю. Ишмуратова, С.В. Кушнаренко

Криоконсервация тұқымдардың зертханалық өну және өсу энергиясын жоғарылату әдісі

Қазақстанда және бүкіл әлемде өсімдік ресурстарының биоалуантүрлілігін жоғалту мәселесі бар. Сондықтан өсімдік гермоплазмасын ұзақ сақтау $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ өте төмен температурада жүргізілетін криогендік банктерін құру бойынша жұмыс жүргізілуде. Криогенді банктерде сақталатын тұқымдар үшін олардың тыныштық күйін және өнуіне жағдай жасайтын заттардың әрекетін зерттеу қажет. Дәрілік өсімдіктер зерттеудің маңызды объектілері болып табылады, себебі республикада дәрілік өсімдіктерді өнеркәсіптік өсіру мен жергілікті шикізатқа негізделген фармацевтикалық препараттар өндірісінің жақсы жұмыс істейтін жүйесі жоқ. Сондықтан өміршең тұқымдық материалдың ұзақ уақыт сақталуы және тұқым өнуін ынталандыратын әдістер туралы ғылыми ақпарат қажет. Эксперименттер нәтижесінде дәрілік өсімдіктердің тұқымының өсу энергиясының (ӨЭ) және зертханалық өнуінің (ЗӨ) пайыздық өсіміне гибберел қышқылы (ГК) мен сұйық азоттың (СА) оң әсері анықталды. Орташа алғанда, тұқымдарға СА әсер еткеннен кейін, ӨЭ пайызы 1,4-ке және ЗӨ 1,5 есеге өсті. Тұқымдарға ГК әсер еткеннен кейін, ӨЭ пайызы 1,2 есе, ал ЗӨ 2,9 есе өсті. ӨЭ мен ЗӨ ынталандыру үшін тұқымдарды ГК немесе СА әдістерінің бірімен өңдеу жеткілікті екендігі анықталды. Ала тікен тұқымдары $1\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ температурада 9 ай сақталғаннан кейін өнгіштігін жоғалтатыны байқалған. Мүмкін, ӨЭ мен ЗӨ ынталандыру үшін жаңадан жиналған тұқымдарды химиялық реагенттермен өңдеу қажет шығар. Дәрілік валериана және дәріханалық түймедақ тұқымының Қарағандылық сортының *in vitro* культурасында СА әсері ӨЭ 4,5 және 1,8 есеге байқалды. СА әсерінен кейін дәрілік валериананың пайыздық көрсеткіші 1,3 есеге өсті, ал дәріханалық түймедақ Қарағандылық сортына ЗӨ әсер етуі байқалмады.

Кілт сөдер: тұқым, дәрілік өсімдіктер, криогендік банк, *in vitro* культурасы, өсу энергиясы, зертханалық өңу.

N.V. Romadanova, M.M. Aralbaeva, N.K. Rymkhanova, D.Sh. Baigaraev,
A.K. Ramazanov, M.Iu. Ishmuratova, S.V. Kushnarenko

Cryopreservation as a way to improve laboratory germination and germination energy of seeds

In all across the world, including Kazakhstan, there is a problem of loss of plant resources biodiversity. Therefore, work is underway to create cryogenic banks, in which long-term storage of plant germplasm is carried out at an ultra-low temperature of $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. For seeds stored in cryogenic banks, it is necessary to study their dormant state and the action of substances that could stimulate their germination. Medicinal plants are important objects for research since the Republic lacks a well-functioning system of industrial cultivation of medicinal plants and the production of pharmaceuticals based on local raw materials. Consequently, scientific information is required on the long-term maintenance of viable seed material and methods of stimulating seed germination. As a result of the experiments, the positive effect of gibberellic acid (GA) and liquid nitrogen (LN) on the increase in the percentage of germination energy (GE) and laboratory germination (LG) of medicinal plants seeds were revealed. On average, after LN exposure to seeds, the percentage of GE increased by 1.4 and LG by 1.5 times. After the exposure to GA, the percentage of GE increased by 1.2 times, and LG by 2.9 times. It was found that, to stimulate GE and LG, it is sufficient to treat seeds with one of the reagents, GA or LN. It was found that the seeds of *Silybum marianum* lose their germination after storage at a temperature of $1\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 9 months. The stimulation of GE and LG may require the treatment of freshly harvested seeds with chemical reagents. The effectiveness of the exposure of LN on *in vitro* seeds GE of *Valeriana officinalis* and *Matricaria chamomilla* variety Karagandinskaya by 4.5 and 1.8 times, respectively, was noted. The LG percentage of *Valeriana officinalis* after exposure to LN increased by 1.3 times, while the effect of LN on the LG of *Matricaria chamomilla* variety Karagandinskaya seeds was not observed.

Keywords: seeds, medicinal plants, cryogenic bank, *in vitro* culture, germination energy, laboratory germination.

References

- 1 (1964). *Flora Kazakhstana [Flora of Kazakhstan]*. Alma-Ata: Nauka [in Russian].
- 2 Dobrokhotova, K.V., & Chudinov, V.V. (1961). *Lekarstvennye rasteniia Kazakhstana [Medicinal plants of Kazakhstan]*. Alma-Ata: Kazakh State Publ. House [in Russian].
- 3 Grudzinskaia, L.M., Gemedzhieva, N.G., Nelina, N.V., & Karzhaubekova, Zh.Zh. (2014). *Annotirovannyi spisok lekarstvennykh rastenii Kazakhstana: spravochnoe izdanie [Annotated list of medicinal plants in Kazakhstan: reference edition]* Almaty [in Russian].
- 4 (2014). *Krasnaia kniga Kazakhstana. Tom 2. Rasteniia [Red Book of Kazakhstan. Volume 2. Plants]*. Astana: «Art Print XXI» Ltd [in Russian].
- 5 Dixit, S., Ahuja, S., Narula, A., & Srivastava, P.S. (2004). Cryopreservation: a potential tool for long-term conservation of medicinal plants. *Plant Biotechnology and Molecular Markers*. New-Delhi: Anamaya Publisher. https://doi.org/10.1007/1-4020-3213-7_19
- 6 Chen, S.-L., Luo, H.-M., Wu, Q., Li, C.-F., & Steinmetz, A. (2016) Conservation and sustainable use of medicinal plants: problems, progress and prospects. *Chinese Medicine*, 11 (37); 2–10. <https://doi.org/10.1186/s13020-016-0108-7>
- 7 Retrieved from <http://www.fao.org/3/i1500r/i1500r03.pdf> [in Russian].
- 8 The Main Botanical Garden of Almaty (2017). Laboratory of seed production and plant protection. *botsad.kz*. Retrieved from https://botsad.kz/ru/labs/view/laboratoriya_semenovodstva [in Russian].
- 9 Romadanova, N.V., Karasholakova, L.N., Makhmutova, I.A., Kabulova, F.D., Abidkulova, K.T., & Kushnarenko, S.V. (2019). Sokhranenie geneticheskogo materiala nekotorykh vidov barbarisa v kriobanke [Conservation of the genetic material of some barberry species in a cryobank]. *Vestnik Karagandinskogo universiteta. Seriya Biologiya. Meditsina. Geografiia — Bulletin of the Karaganda University. Biology. Medicine. Geography Series*, 3(95), 20–26 [in Russian].
- 10 Kushnarenko, S., Salnikov, E., Nurtazin, M., Mukhitdinova, Z., Rakhimbaev, I., & Reed, B.M. (2010). Characterization and Cryopreservation of *Malus sieversii* Seeds. *The Asian and Australasian Journal of Plant Science and Biotechnology*, 4(1); 5–9.
- 11 Kushnarenko, S.V., Mukhitdinova, Z.R., & Aralbaeva, M.M. (2011). *Kriokonservatsiia semian: Metodicheskie rekomendatsii [Cryopreservation of seeds. Methodical recommendations]*. Almaty: TST-Company [in Russian].
- 12 Reed, B.M., Kovalchuk, I., Kushnarenko, S., Meier-Dinkel, A., Schoenweiss, K., Pluta, S., Straczynska, K., & Benson, E.E. (2004). Evaluation of critical points in technology transfer of cryopreservation protocols to international plant conservation laboratories. *CryoLetters*, 25(5); 341–352.

- 13 Romadanova, N.V., Zheksembekova, M.A., Aralbaeva, M.M., Tolegen, T.E., Koken, T.E., Nurmanov, M.M., & Kushnarenko, S.V. (2020). *Katalog kolleksii in vitro, kriobanka i sazhensev yabloni, lesnogo i gretskogo orekhov [Catalog of the in vitro collection, cryobank and seedlings of apple, hazel and walnuts]*. Almaty [in Russian].
- 14 Romadanova, N., Kushnarenko, S. & Karasholokova, L. (2017). Development of a common PVS2 vitrification method for cryopreservation of several fruit *in vitro*. *Cellular & Developmental Biology*, 53 (4); 382–393. <https://doi.org/10.1007/s11627-017-9849-y>
- 15 (2011). *Medical plant conservation*. Ontario.
- 16 Nikolaeva, M.G., Razumova, M.V., & Gladkova, V.N. (1985). *Spravochnik po prorashchivaniiu pokoiashchikhsia semian [A guide to germinating dormant seeds]*. Leningrad: Nauka [in Russian].
- 17 Dowsett, C.A., James, T., & Trivedi, P. (2012). Adaption of a technique for the accelerated ageing of weed seeds to evaluate their longevity. *New Zealand Plant Protection*, 65; 69–73. <https://doi.org/10.30843/nzpp.2012.65.5427>
- 18 Bewley, J.D., & Black, M. (1982). *Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination*. Berlin; Heidelberg; New York. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-68643-6>
- 19 Bareke, T. (2018). Biology of seed development and germination physiology. *Plants & Agriculture Research*, 8(4); 336–346. <https://doi.org/10.15406/apar.2018.08.00335>
- 20 Voronkova, N.M., & Kholina, A.B. (2016). Vliianie glubokogo zamorazhivaniia na prorastanie semian rastenii pribrezhno-morskikh i priligaishchikh territorii Dalnego Vostoka Rossii [Effect of deep freezing on seed germination of plants in coastal and adjacent territories of the Russian Far East]. *Vestnik DVO — Bulletin of Far-East Department of RAS*, 3; 31–38 [in Russian].
- 21 Turdiev, T.T., Mamonov, L.K., Kovalchuk, I.Yu., Usenbekov, B.N., Kazkeev, D.T., Baibasynova, S.M., Rysbekova, A.B., & Podolskikh, A.N. (2013). Sposob vosstanovleniia zhiznesposobnosti i povysheniia vskhozhesti semian Risa posle dlitel'nogo khraneniia [A method to restore the viability and increase the germination of rice seeds after long-term storage]. *Innovatsionnyi patent RK na izobrenie — Innovative patent of RK for invention* [in Russian].
- 22 Putyrskii, I.N., & Prokhorov, V.N. (2000). *Universalnaia entsiklopediia lekarstvennykh rastenii [Universal encyclopedia of medicinal plants]*. Moscow: Makhaon [in Russian].
- 23 Terekhin, A.A., & Vandyshev, V.V. (2008). *Tekhnologiia vozdel'vaniia lekarstvennykh rastenii [Technology of cultivation of medicinal plants]*. Moscow [in Russian].
- 24 Retrieved from https://damu.kz/klienty-fonda/detail.php?ELEMENT_ID=7873 [in Russian].
- 25 Retrieved from <https://kyzylmay.com/> [in Russian].
- 26 Retrieved from https://www.emis.com/php/company-profile/KZ/Azia_Gold_Asia_Gold_TOO_Azia_Gold_%D0%90%D0%B7%D0%B8%D1%8F_%D0%93%D0%BE%D0%BB%D0%B4_%D0%A2%D0%9E%D0%9E_ru_8596189.html [in Russian].
- 27 Retrieved from <https://agbz.kz/kak-razvivat-biznes-na-travah/> [in Russian].
- 28 Gubanov, I.A., & Kiseleva K.V. (2004). *Illiustrirovannii opredelitel rastenii Srednei Rossii. Tom 3. Pokrytosemennye (dvudolnye, razdelnolepestnye) [Illustrated guide to plants of Central Russia. Volume 3: Angiosperm (monocotyledons, choripetalous)]*. Moscow: Institute of technological research [in Russian].
- 29 Knop, W. (1865). *Quantitative utersuchungenüber den ernährungsprozess der pflanze [Quantitative uterine searches about the nutritional process of the plant]*. Landw, Versuchssat [in German].
- 30 Lakin, G.F. (1990). *Biometriia: uchebnoe posobie dlia biologicheskikh spetsialnostei vuzov [Biometrics: A Textbook for Biological specialists of universities]*. Moscow: Vysshaia shkola [in Russian].
- 31 SYSTAT (2007) SYSTAT 12.0, SYSTAT Software, Inc, San Jose, CA, pp. Statistics software.