

Биотехнология и физиология растений

DOI 10.33952/2542-0720-2020-5-9-10-86

УДК 581.143.6:582.734.4

Амброс Елена Валерьевна¹, Карпова Евгения Алексеевна¹, Коцупий Ольга Викторовна¹, Зайцева Юлианна Геннадьевна¹, Трофимова Елена Геннадиевна², Новикова Татьяна Ивановна¹

Использование механокомпозита на основе биогенного диоксида кремния и флавоноидов зеленого чая для оптимизации технологии клонального микроразмножения земляники крупноплодной

¹ФГБУН «Центральный сибирский ботанический сад СО РАН»;
²ФГБУН «Институт химии твёрдого тела и механохимии СО РАН»
e-mail: ambros_ev@mail.ru

Длительное культивирование земляники крупноплодной (*Fragaria ananassa* Duch.) приводит к накоплению болезней и вредителей, которые угнетают рост и снижают урожайность культуры. Одним из инструментов решения этих проблем является использование клонального микроразмножения для производства высококачественного посадочного материала. Получение максимального количества регенерантов земляники преимущественно связано с типом и концентрацией применяемого цитокинина (ЦК), в основном 6-бензиламинопурина (БАП) в индукционной фазе микроразмножения. В то же время, применение БАП может способствовать появлению вызванных окислительным стрессом морфо-физиологических нарушений у растений *in vitro*, препятствующих успешной адаптации растений в нестерильных условиях *ex vitro*. Для получения желаемого фенотипа *in vitro* культуральная среда часто оптимизируется добавлением соединений, обладающих антиоксидантными свойствами. В настоящее время актуально применение «зеленой химии» ввиду экологической чистоты, преимуществам обработки и низкой себестоимости. Перспективным препаратом в этой области является механокомпозит (МК) из биодоступного кремния и антиоксидантов, полученных из рисовой шелухи и зеленого чая [1, 2]. Целью нашего исследования было: (1) оптимизировать протокол микроразмножения сортов *F. ananassa* с использованием механокомпозита (МК) как индуктора органогенеза *in vitro*, (2) исследовать влияние МК на ключевые физиологические и биохимические параметры микроразмножения земляники, включая активность антиоксидантной системы, фотосинтеза, биосинтеза фенольных соединений (ФС) и уровней эндогенных фитогормонов.

Микропобеги двух сортов *F. ananassa* (сорта Солнечная полянка, Альфа) размером от 7 до 15 мм из стерильной культуры помещали на среды с минеральной основой Гамборга и Эвелега, дополненные 0,75 мг/л БАП (контроль) и экспериментальные – с добавками 2,5; 5,0 или 10 мг/л МК на фоне БАП. Продолжительность культивирования на этапе собственно размножения составила восемь недель. Культуры содержали под люминесцентными лампами холодного белого света (TL-D 36W/54-765, «Philips») с интенсивностью 3000 лк, с периодом освещения 16 часов при температуре 23±2 °С. В конце культивирования определяли частоту пролиферации, число побегов на эксплант, физиолого-биохимические параметры. Результаты обрабатывали методами дисперсионного анализа.

Использование питательных сред, содержащих МК, стимулировало процессы пролиферации пазушных меристем *F. ananassa* в сравнении с контрольной средой. Высокая частота пролиферации (100 %) и максимальное количество пазушных побегов у сортов (в 1,8–2,0 раза выше контроля) получено на среде с добавлением 5,0 мг/л МК. Концентрации 2,5 мг/л и 10,0 мг/л МК, хотя и стимулировали пролиферацию *in vitro*, на фоне БАП, однако количество побегов уменьшалось в 1,2–1,5 раза по сравнению с оптимальной концентрацией (5 мг/л) ($p < 0,05$). Кроме того,

высокая пролиферативная активность была связана с повышением накопления H_2O_2 и увеличением содержанием хлорофилла (Хл) *a*, Хл *b*, Хл (*a + b*) и каротиноидов ($P < 0.05$) под действием 5,0 мг/л МК. Содержание Хл *a* увеличилось в 1,17 раз у сорта Солнечная полянка и в 1,59 раз у сорта Альфа, содержание Хл *b* – в 1,31 и 1,58 раз, содержание Хл (*a + b*) – в 1,21 и 1,62 раз соответственно по сравнению с контролем. Увеличение содержания основных пигментов повышает фотосинтетический потенциал этих растений и их приспособляемость к акклиматизации. Накопление H_2O_2 в микропобегах снижалось при добавлении 10,0 мг/л МК у обоих сортов. Наибольшее образование H_2O_2 наблюдали у сорта Альфа под действием эффективных для формирования побегов концентраций МК (2,5 и 5,0 мг/л). Результаты по накоплению H_2O_2 под действием МК в наших экспериментах согласуются с недавними исследованиями, которые показали активное участие H_2O_2 в клеточной пролиферации у растений в качестве вторичного мессенджера [3]. Различия в накоплении H_2O_2 были связаны с изменениями активностей антиоксидантных ферментов, что предполагает правильное функционирование механизма антиоксидантной защиты у растений. Активность супероксиддисмутазы увеличивалась в 1,2–1,4 раза при 2,5 и 5,0 мг/л МК, тогда как при 10,0 мг/л МК значительно снижалась в 1,2–1,3 раза по сравнению с контролем в зависимости от генотипа. У обоих сортов активность каталазы снижалась в 1,9–2,4 раза при 10,0 мг/л МК и существенно не изменялась по сравнению с контролем при 2,5 и 5,0 мг/л МК. Активность пероксидазы в микропобегах сорта Солнечная полянка под действием 5,0 и 10,0 мг/л МК была в 2,9–3,8 раза выше, чем в контроле, в то время как у сорта Альфа увеличение активности фермента наблюдали при 5,0 мг/л МК (в 2,5 раза) ($p < 0,05$). Основные различия в гормональном статусе сортов были связаны с уровнем эндогенного ЦК – 2-изопентиладенина (иП). Сорт Солнечная полянка характеризовался высоким уровнем иП (452,3–1261,3 нг/г сырого веса), у сорта Альфа уровень иП в контроле, при минимальной и максимальной концентрациях МК не был высоким (50,7–384,8 нг/г сырого веса). Диапазон индолилуксусной кислоты для сорта Солнечная полянка был шире (178,6–1043,1 нг/г сырого веса), чем для сорта Альфа (400,5–679,5 нг/г сырого веса). Увеличение содержания эндогенного ауксина при уменьшении содержания ЦК в конце цикла микроразмножения указывает на готовность регенерантов к последующим этапам элонгации и укоренения. Общее содержание ФС в микропобегах сорта Солнечная полянка снижалось с повышением концентрации МК. В микропобегах сорта Альфа сумма ФС значительно увеличивалась при 5 мг/л МК ($P < 0.05$).

Таким образом, показана существенная модификация физиологического состояния растений земляники *in vitro* под воздействием МК, полученного из возобновляемого растительного сырья. МК способствовал не только индукции морфогенных процессов в тканях регенерантов, но и изменению ферментативной, фотосинтетической и гормональной активностей. Полученные результаты могут быть использованы для улучшения адаптивного потенциала растений под действием МК и позволяют рассматривать препарат, как перспективное соединение для практического применения с целью увеличения регенерационных способностей и защиты растений от стресса в условиях *in vitro*.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Правительства Новосибирской области в рамках научного проекта № 19-44-540004. При подготовке публикации использовались материалы биоресурсной научной коллекции ЦСБС СО РАН, «Коллекции живых растений в открытом и закрытом грунте», USU 440534».

Литература

1. Shapolova E. G., Lomovsky O. I. Mechanochemical solubilization of silicon dioxide with polyphenol compounds of plant origin // Russ. J. Bioorg. Chem. 2013. Vol. 39. P. 765–770.

2. Амброс Е. В., Коцупий О. В., Карпова Е. А., Трофимова Е. Г., Зайцева Ю. Г., Новикова Т. И. Адаптивный ответ регенерантов *Fragaria ananassa* Duch. Под действием механокомпозита на основе аморфного диоксида кремния и флавоноидов зелёного чая в условиях *in vitro* // Теоретическая и прикладная экология. 2019. № 4. С. 116–122.

3. Guo B., He W., Zhao Y., Wu Y., Fu Y., Guo J., Wei Y. Changes in endogenous hormones and H₂O₂ burst during shoot organogenesis in TDZ-treated *Saussurea involucre* explants // Plant Cell Tissue Organ Cult. 2017. Vol. 128. P. 1–8.

UDC 581.143.6:582.734.4

Ambros E. V., Karpova E. A., Kotsupiy O. V., Zaytseva Yu. G., Trofimova E. G., Novikova T. I.

Optimization of cultivated strawberry micropropagation using a biogenic silica and green-tea-flavonoids-based mechanocomposite

Summary. For the first time, organogenesis and physiological characteristics of *Fragaria ananassa* microclones (cvs. ‘Alpha’ and ‘Solnechnaya polyanka’) under the influence of mechanocomposite (MC) based on rice husks amorphous silica and flavonoids of green tea during the multiplication stage in *in vitro* conditions were studied. The addition of the MC (0.0, 2.5, 5.0 and 10.0 mg·L⁻¹) to the Gamborg-Eveleg’s basal salt medium supplemented with 0.75 mg·L⁻¹ 6-benzylaminopurine has shown beneficial action on processes of organogenesis followed by enzymatic, photosynthetic, and hormonal activities of *in vitro* cultured strawberry plantlets. In both cultivars, the high frequency of proliferation (100 %) and maximum number of axillary shoots increased by 1.8–2.0 times on medium supplemented with 5.0 mg·L⁻¹ MC. The concentrations of 2.5 and 5.0 mg·L⁻¹ MC were optimal for obtaining plantlets with high physiological state in *in vitro* conditions. The results may be used for the development of production systems for a healthy planting material using biotechnological approaches and recommended for commercial strawberry micropropagation.

Keywords: organogenesis, photosynthetic pigments, hydrogen peroxide, antioxidant enzymes, phenolic compounds, silica-green tea mechanocomposite, cultivated strawberry, micropropagation.

DOI 10.33952/2542-0720-2020-5-9-10-87

УДК 546.47/49:581.1:581.4:633.16

Дикарев Алексей Владимирович

Оценка ответа четырех сортов ярового ячменя на действие кадмия по физиолого-биохимическим и морфометрическим параметрам в условиях полного цикла вегетации

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии»
e-mail: ar.djuna@yandex.ru

Одной из актуальных проблем современного сельского хозяйства стало загрязнение почв тяжелыми металлами (ТМ), такими, как кадмий [1]. Проблеме воздействия этого ТМ на сельскохозяйственные растения посвящено много работ, однако этот вопрос требует дополнительного исследования [2]. В частности, интересной темой является внутривидовая дифференциация по устойчивости к ТМ сельскохозяйственных культур и причины ее формирования. Известно, что сорта растений могут проявлять повышенную устойчивость к ТМ, будучи способными успешно завершить жизненный цикл даже в условиях высокого содержания поллютанта в почве [3, 4]. Идентификация таких сортов позволяет углубить понимание общебиологических механизмов стресс-устойчивости, а также способствует улучшению продовольственной безопасности. Ячмень – подходящий объект для такого исследования, так как он – важнейшая сельскохозяйственная культура, широко возделываемая по всему миру и досконально изученная на всех уровнях организации. Ранее нами установлено [5], что проростки различных сортов ячменя не одинаково реагируют на действие кадмия, и эти сорта разделяются на устойчивые и чувствительные. Цель настоящего исследования – оценить, воспроизводятся ли результаты, полученные на проростках, в условиях полного цикла вегетации.