

UDC 546.47/49:581.1:581.4:633.16

Dikarev A. V.

Assessment of the response of four spring barley varieties to the toxic effects of cadmium according to physiological, biochemical and morphometric parameters throughout the plant's life cycle

Summary. At our previous laboratory experiments, it was found that different spring barley varieties have some different reactions to the cadmium stress at the morphologic, cytogenetic and biochemical levels of plants organization. Thus, the goal of the current work was to assess the reliability of the previous results at full vegetation cycle of plant. The experiment was carried out on the loamy soil with four contrasting at its reactions to the cadmium barley varieties. Cadmium tolerant varieties demonstrated significantly higher values of productivity (e.g. straw, in this case, weighted four times more) and had a less amounts of Cd^{2+} accumulated at tissues (1.2–2.5 times) in contrast to sensitive ones, which, in fact, gave no harvest at Cd^{2+} pollution at a rate of 50 mg/kg. The identified polymorphism of barley varieties in terms of resistance is maintained throughout the plant's life cycle.

Keywords: cadmium, soil pollution, barley, tolerant and sensitive varieties.

DOI 10.33952/2542-0720-2020-5-9-10-88

УДК 633.81:57.085.2

Егорова Наталья Алексеевна, Загорская Маргарита Сергеевна, Якимова Ольга Валерьевна

Питательная среда для микроразмножения мяты в культуре *in vitro*

ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма»

e-mail: zagorskayamargo@gmail.com

Мята – одно из наиболее известных эфиромасличных и лекарственных растений, которое активно используется в пищевой, парфюмерно-косметической и фармацевтической промышленности. Для ускоренного размножения ценных генотипов и сортов, получения качественного посадочного материала необходимы эффективные методы клонального микроразмножения. Важнейшим фактором в технологии культивирования *in vitro* является состав питательной среды. В литературе имеются весьма противоречивые данные, касающиеся состава питательных сред для основных этапов микроразмножения *in vitro* у разных видов и сортов мяты [1–3].

Цель данной работы – изучение влияния состава питательной среды на развитие эксплантов на втором этапе клонального микроразмножения мяты для совершенствования методики размножения *in vitro*.

Материалом для исследований служили ткани и органы *Mentha canadensis* L. селекционного образца K59(4n). Этот полиплоидный образец мяты характеризуется высокой масличностью (массовая доля эфирного масла 7,09%) и содержанием ментола в эфирном масле (до 80%) [4]. В культуру *in vitro* вводили меристемы с 2 листовыми примордиями. На втором этапе (собственно микроразмножение) в качестве эксплантов использовали сегменты стебля с одним узлом, которые культивировали на питательной среде Мурасиге и Скуга (МС) с добавлением кинетина, БАП, ИУК, гибберелловой кислоты (ГК₃) и 2-3% сахарозы. В исследованиях использовали традиционные методы культуры тканей и органов. Экспланты культивировали при 24–26 °С, относительной влажности воздуха 70%, освещенности 2-3 клк с 16-часовым фотопериодом. Коэффициент размножения рассчитывали как количество микрочеренков, которое можно получить за одно субкультивирование, для этого количество образующихся на экспланте побегов умножали на число узлов на побеге.

При введении меристем мяты в асептическую культуру наблюдали развитие основного побега, а также 2-5 дополнительных. Для дальнейшего размножения проводили микрочеренкование побегов, разделяя их на сегменты стебля с одним узлом. Одним из основных факторов, лимитирующих развитие эксплантов при

микроразмножении *in vitro*, является состав питательной среды. Для некоторых выращиваемых в Крыму сортов мяты ранее была подобрана среда МС, дополненная 1,0 мг/л БАП, 0,1 мг/л кинетин, 0,5 мг/л ИУК и 3% сахарозы [1]. В нашем эксперименте модификации питательной среды МС были направлены на упрощение и удешевление состава этой среды, используемой в качестве контрольной (таблица).

Как видно из полученных данных, на питательных средах, содержащих в качестве регулятора роста только БАП (№ 3 и 4), формировалось наименьшее число побегов на эксплант. В этих вариантах опыта отмечены самые низкие коэффициенты размножения (6,2 и 5,6 соответственно). На питательной среде № 5 с БАП (0,5 мг/л) и ИУК (0,1 мг/л) выявлено незначительное увеличение коэффициента размножения. При совместном введении в питательную среду БАП и ГК₃ (среда № 6) выявлено максимальное количество побегов (5,0 шт./эксплант). В итоге коэффициент размножения достиг 10,5, однако разница с контрольной средой № 1 была недостоверна. Достоверное увеличение основного показателя – коэффициента размножения (до 11,5) отмечено на среде № 2, содержащей БАП (1,0 мг/л), ИУК (0,5 мг/л) и 2% сахарозы. Поэтому рекомендуется исключить из состава контрольной среды кинетин и уменьшить концентрацию углевода до 2%, что помимо снижения стоимости питательной среды будет способствовать повышению коэффициента размножения.

Таблица – Влияние состава питательной среды на развитие эксплантов на втором этапе клонального микроразмножения мяты

№ среды	Гормональные добавки в питательной сред МС (мг/л)	Количество побегов, шт./эксплант	Длина побега, мм	Количество узлов, шт./побег	Коэффициент размножения
1	БАП (1,0) + кинетин (0,1) + ИУК (0,5), 3% сахарозы	3,6±0,7	30,2±1,9	2,6±0,2	9,4±0,5
2	БАП (1,0)+ ИУК (0,5), 2 % сахарозы	3,2±0,3	35,4±0,8	3,6±0,1	11,5±0,5
3	БАП (1,0), 2 % сахарозы	2,6±0,2	29,2±1,4	2,4±0,2	6,2±0,4
4	БАП (0,5), 2 % сахарозы	1,8±0,1	35,8±2,6	3,1±0,3	5,6±0,4
5	БАП (0,5)+ ИУК (0,1), 2 % сахарозы	2,2±0,2	39,4±1,3	3,0±0,5	6,6±0,4
6	БАП (1,0)+ГК ₃ (0,5), 2 % сахарозы	5,0±0,8	31,3±4,7	2,1±0,2	10,5±0,6

Аналогичные данные получены А. Paric с соавт. [3], которые показали, что сочетание БАП и ИУК было оптимальным для получения максимальных морфометрических показателей эксплантов при размножении мяты. Однако в других исследованиях представлены довольно разнообразные гормональные составы сред для микроразмножения видов мяты. Так, S. Bolouk с соавт. [2] при микроразмножении *M. piperita* лучший результат получили на питательной среде МС без гормонов. С другой стороны, в работе J. Mehta с соавт. [5] для этого вида установлено, что максимальный коэффициент размножения (7,5) обеспечило сочетание 0,5 мг/л БАП и 3,0 мг/л кинетин. Имеются сведения о том, что оптимальная среда, на которой коэффициент размножения у *M. piperita* достигал 15,0, содержала БАП (0,75 мг/л), аденин (0,1 мг/л), ИУК (0,05 мг/л) и ГК₃ (0,5 мг/л) [6].

Таким образом, в результате наших исследований на примере селекционного образца мяты K59(4n) показано, что максимальный коэффициент размножения обеспечивала питательная среда МС с добавлением БАП (1,0 мг/л), ИУК (0,5 мг/л) и 2 % сахарозы. Для ряда сортов мяты (Ажурная, Бергамотная, Украинская перечная) также показана эффективность этой среды, на которой коэффициенты размножения при микроразмножении достигали 11,8.

Литература

1. Бугара И. А. Индуцированный морфогенез и клональное микроразмножение перспективных сортов мяты. Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. Ялта: НБС-НИЦ, 2006. 20 с.
2. Bolouk S. G., Kazemitabar A. S. K., Sinaki J. M. *In vitro* culture of the peppermint plant (*Mentha piperita*) without the use of hormones // Int. J. Agric. Crop Sci. 2013. Vol. 6 (18). P. 1279–1283.

3. Paric A., Karalija E., Cakar J. Growth, secondary metabolites production, antioxidative and antimicrobial activity of mint under the influence of plant growth regulators // *Acta Biologica Szegediensis*. Vol. 61. No. 2. 2017. P. 189–195.

4. Бугаенко Л. А., Шилов Н. П. Полиплоидия и межвидовая гибридизация у мяты. Симферополь: Бизнес-Информ, 2012. С. 86–90.

5. Mehta J., Naruka R., Sain M., Dwivedi A., Sharma D., Mirza J. An efficient protocol for clonal micropropagation of *Mentha piperita* L. (Pippermint) // *Asian Journal of Plant Science and Research*. 2012. Vol. 2 (4). P. 518–523.

6. Таланкова-Середа Т. Е., Коломієць Ю. В., Григорюк І. П. Клональне мікророзмноження сортів м'яты перцевої (*Mentha piperita* L.) української селекції // *Біотехнологія та біобезпека*. 2016. № 2 (31). С. 5–56.

UDC 633.81:57.085.2

Yegorova N. A., Zagorskaya M. A., Yakimova O. V.

Culture medium for mint micropropagation *in vitro*

Summary. The influence of the culture medium composition on the development of explants at the second stage of clonal micropropagation of mint (*Mentha canadensis* L. K59(4n)) was studied in order to improve the *in vitro* propagation technique. It was shown that the maximum multiplication rate (11.5) was provided by MS medium supplemented with BAP (1.0 mg/L), IAA (0.5 mg/L) and 2% sucrose.

Keywords: mint, micropropagation *in vitro*, culture medium, explants.

DOI 10.33952/2542-0720-2020-5-9-10-89

УДК 633.81:57.085.2

Егорова Наталья Алексеевна, Ставцева Ирина Викторовна

Оптимизация приемов клеточной селекции лаванды на устойчивость к низкотемпературному стрессу

ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма»
e-mail: yegorova.na@mail.ru

Важной задачей селекции эфиромасличных растений, в том числе и лаванды, является создание высокопродуктивных сортов, устойчивых к стрессовым факторам среды. Клеточная селекция – один из эффективных биотехнологических методов, который позволяет получать генотипы, устойчивые к засухе, засолению почв, экстремальным температурам, болезням и другим факторам [1]. В исследованиях по селекции *in vitro* применяют разные методические подходы, схемы отбора, экспланты, селективные агенты, питательные среды и длительность стресса [2,3]. В качестве объектов для отбора *in vitro* используют каллусные, суспензионные культуры, зиготические зародыши [1–4]. Цель работы – изучение действия низкотемпературного стресса на развитие каллусных культур лаванды для оптимизации приемов клеточной селекции на устойчивость к этому фактору *in vitro*.

Материалом для исследований служили каллусные культуры, полученные из листовых эксплантов лаванды (*Lavandula angustifolia* Mill.) сорта Степная, которые культивировали на MS среде с добавлением 1,0 мг/л НУК и 0,5 мг/л БАП. В некоторых вариантах эксперимента каллусы предварительно культивировали на питательной среде с добавлением 10 мг/л колхицина в течение 14 сут. Для моделирования низкотемпературного стресса проводили закаливание культур при 4–0 °С (5 сут), промораживание при постепенном снижении температуры от 0 до –10... –14 °С и оттаивание при 4–0 °С (5 сут). Испытаны четыре варианта промораживания при снижении температуры: 1) до –10 °С (10 сут); 2) до –10 °С (12 сут); 3) до –12 °С (16 сут); 4) до –14 °С (19 сут). В контроле культивирование осуществляли при 26 °С. После холодного стресса каллусы пересаживали на свежую питательную среду и культивировали при 26 °С, 70 % влажности и освещенности 2–3 клк с 16-ти часовым фотопериодом. В конце цикла выращивания определяли массу и ростовой индекс (РИ) каллуса, а также частоту морфогенеза.