

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

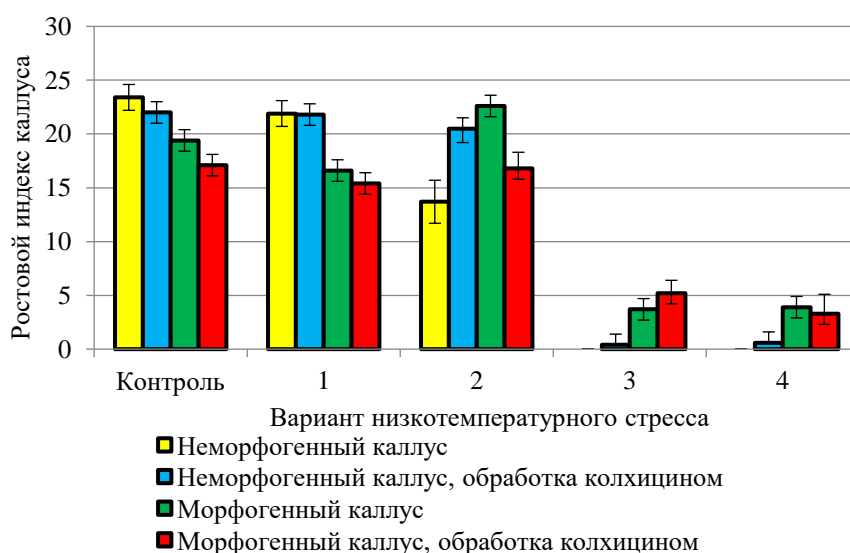
### **Оптимизация приемов клеточной селекции лаванды на устойчивость к низкотемпературному стрессу**

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.

В ходе предварительных опытов выявлена необходимость проведения закалки и возможность отбора каллусов при отрицательных температурах, показана сортовая вариабельность по устойчивости к холодному стрессу, продемонстрировано преимущество использования для обработки каллусов на линейной фазе цикла выращивания [5]. В данной работе проводили сравнение устойчивости к низкотемпературному стрессу неморфогенных и морфогенных (с зелеными меристематическими участками и почками) каллусов, а также эффективности применения предварительной обработки культур мутагеном, в качестве которого использовали колхицин (рисунок) и температуры промораживания происходило снижение прироста массы каллуса. Тип каллуса оказал значительное влияние на устойчивость к холодному стрессу. У неморфогенных каллусов достоверное снижение РИ наблюдали после второго варианта холодного стресса, а третий и четвертый варианты оказали летальное действие на каллусные ткани, приводя к их некрозу. Морфогенные каллусы были более устойчивы к отрицательным температурам по сравнению с неморфогенными – у них выше сублетальная доза (четвертый вариант промораживания), выше РИ при действии стресса, и, следовательно, можно выделить больше устойчивых линий. Определены сублетальные режимы промораживания для разных типов каллусов: у неморфогенного – второй, а у морфогенного – четвертый вариант промораживания.



**Рисунок – Влияние разных вариантов низкотемпературного стресса и типа каллуса на прирост массы каллуса лаванды сорта Степная**

Мутагенная предобработка каллусных культур способствовала повышению устойчивости к стрессу неморфогенных каллусов, у которых только после действия колхицина наблюдали небольшой прирост после третьего и четвертого вариантов холодного стресса, которые для необработанного каллуса были летальными. Для морфогенных каллусов такая обработка не оказала существенного влияния, за исключением второго варианта стресса.

Важнейшей проблемой при клеточной селекции *in vitro* является сохранение регенерационной способности у выделенных устойчивых клеточных линий. Установлено, что сразу после низкотемпературного стресса для дальнейшего культивирования как неморфогенных, так и морфогенных каллусов лучше использовать питательную среду для каллусогенеза (МС160 с 1,0 мг/л НУК и 0,5 мг/л БАП), на которой РИ были в 1,5–3,1 раза выше, чем на среде для индукции

морфогенеза (МС427 с 1,0 мг/л БАП). В следующем пассаже после отрастания неморфогенные каллусные культуры переносили на среду МС427.

Однако линии лаванды, отобранные из устойчивых неморфогенных каллусов, при их дальнейшем переводе на регенерационную среду были не способны к морфогенезу. После холодового стресса индукцию морфогенеза наблюдали только у линий, отобранных из морфогенных каллусов. При этом у выделенных устойчивых линий частота морфогенеза снижалась в 3–5 раз, а развитие почек и побегов было заторможено по сравнению с контролем, что часто отмечали при клеточной селекции других видов растений [1, 2]. Из отобранных устойчивых к низкой температуре каллусных линий лаванды получены растения-регенеранты, которые будут в дальнейшем изучены в полевых условиях.

В результате исследований показана большая эффективность использования для клеточной селекции лаванды на устойчивость к низкотемпературному стрессу морфогенных каллусных культур, чем неморфогенных; определен сублетальный режим обработки; отобраны устойчивые линии, из которых получены растения-регенеранты.

### Литература

1. Rai M. K., Kalia R. K., Singh R., Gangola M. P., Dhawan A. K. Developing stress tolerant plants through *in vitro* selection – an overview of the recent progress // *Environmental and Experimental Botany*. 2011. Vol. 71(1). P. 89–98.
2. Дубровна О. В., Чугункова Т. В., Бавол А. В., Лялько И. И. Біотехнологічні та цитогенетичні основи створення рослин, стійких до стресів. Київ: Логос, 2012. 428 с.
3. Kondic-Sipka A., Hristov N., Kobiljski B. *In vitro* screening for low temperature tolerance of wheat genotypes // *Genetica*. 2006. Vol. 38. No. 2. P. 137–144.
4. Егорова Н. А., Ставцева И. В. Разработка биотехнологических приемов получения устойчивых к низкотемпературному стрессу форм кориандра *in vitro* // *Масличные культуры*. 2016. Вып. 1 (165). С. 43–50.
5. Егорова Н. А., Ставцева И. В. Разработка селективной системы *in vitro* для получения каллусных линий лаванды, устойчивых к низкой температуре // *Труды Кубанского государственного аграрного университета*. 2017. № 4 (67). С. 48–51.

UDC 633.81:57.085.2

Yegorova N. A., Stavtseva I. V.

### Optimization of the methods of lavender cell selection for resistance to low temperature stress

**Summary.** The influence of low-temperature stress on the callus culture development of *Lavandula angustifolia* was investigated. The use of morphogenic callus is more effective for cell selection than that of non morphogenic one. The sublethal regime of treatment by stress factor for morphogenic callus was determined – freezing during 19 days when air temperature decreases gradually to –14 °C. Resistant lines were selected, then plants were regenerated from them.

**Keywords:** *Lavandula angustifolia*, selection *in vitro*, low- temperature stress, callus culture.

DOI 10.33952/2542-0720-2020-5-9-10-90

УДК 635.71+ 577.113.083

Загорская Маргарита Сергеевна

### Некоторые аспекты выделения геномной ДНК из растений лаванды разного происхождения

ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма»  
e-mail: zagorskayamargo@gmail.com

Лаванда узколистная (*Lavandula angustifolia* Mill.) – лекарственное, эфиромасличное, пряно-ароматическое многолетнее растение семейства Lamiaceae. Из-за богатого насыщения биологически активными компонентами, используют как само растение, так и эфирное масло. Эфирное масло лаванды узколистной (основные компоненты – линалилацетат и линалоол) обладает противовоспалительным,