

Тимьян – многолетнее растение семейства Яснотковые, обладающее противовоспалительным, спазмолитическим, обезболивающим и антисептическим свойствами [1]. Препараты из растительного сырья применяют при заболеваниях желудочно-кишечного тракта, они улучшают пищеварение, устраняют вздутие живота. Кроме того, тимьян способен оказывать отхаркивающее и бронхорасширяющее действие, поэтому его используют при лечении бронхита и ангины [2]. В ФГБУН «НИИСХ Крыма» проводят селекционную работу по получению новых сортов тимьяна, в процессе которой необходимо быстро размножить перспективные образцы, обладающие комплексом полезных признаков. Цель исследования – изучение влияния условий культивирования (типа пробки и культурального сосуда) и состава питательной среды на морфогенез эксплантов на первом-втором этапах клонального микроразмножения тимьяна крымского.

Материалом для исследований служили ткани и органы растений тимьяна крымского (*Thymus tauricus* Klokov et Des.-Shost.) из коллекции ФГБУН «НИИСХ Крыма». В работе использовали общепринятые методы культуры органов и тканей растений. В изолированную культуру вводили верхушки побегов и сегменты стебля с узлом (8–10 мм). Экспланты культивировали при 24–26 °С, относительной влажности воздуха 70 % и освещенности 2–3 тысячи люкс с фотопериодом 16 часов.

При введении в асептическую культуру экспланты помещали на питательные среды в пробирки, закрытые ватно-марлевыми пробками или фольгой. Установлено, что количество образовавшихся побегов на питательных средах с добавлением БАП значительно возросло при использовании фольги (таблица 1).

Таблица 1 – Влияние состава питательной среды и типа пробки на развитие побегов на этапе введения в культуру *in vitro* *T. tauricus*

Состав регуляторов роста в питательной среде МС, мг/л	Количество побегов на эксплант, шт.		Длина побега, см		Частота оводненных побегов, %	
	Ф	ВМ	Ф	ВМ	Ф	ВМ
БАП – 1,0	12,9±0,5*	5,0±0,6	3,2±0,2*	1,7±0,2	31,2±4,2*	12,0±1,2
БАП – 1,0 + ГК ₃ – 1,0	21,5±1,4*	14,1±1,5	3,0±0,2*	1,6±0,1	50,4±5,2*	31,2±3,2
Кинетин – 1,0	8,1±0,6	6,1±0,7	4,5±0,3	5,0±0,3	0,0	0,0
Кинетин – 1,0 + ГК ₃ – 1,0	10,1±0,7	7,8±0,6	4,6±0,4	4,4±0,5	0,0	0,0

Примечание. ВМ – ватно-марлевая пробка; Ф – фольга; * Различия достоверны при сравнении типа пробки при $p \leq 0,05$.

Анализ влияния гормонального состава питательной среды на морфометрические показатели эксплантов показал, что использование БАП в качестве цитокинина на первом этапе способствовало образованию большего количества побегов, но с меньшей длиной по сравнению с кинетином. Однако применение БАП вызывало витрификацию побегов, что делает нежелательным его использование для микроразмножения *T. tauricus*. Аналогичные данные были получены при изучении размножения *in vitro* *T. vulgaris* [3, 4]. У *T. leucotrichus* при сравнении трех цитокининов (БАП, кинетин, ТДЗ) лучшие результаты при микроразмножении были получены при использовании 1 мг/л БАП [5]. Для множественного побегообразования *T. broussonetii* предлагалось использовать вначале среду МС с 0,5 мг/л БАП, а затем

МС с 0,4 мг/л ГК₃ [6]. В наших исследованиях добавление ГК₃ в питательную среду способствовало повышению количества побегов, но не оказало существенного влияния на длину побега.

Исследовано влияние типа культурального сосуда на морфогенетический потенциал эксплантов на 2-м этапе микроразмножения (табл. 2). При использовании стеклянных банок на средах с добавлением кинетина наблюдали тенденцию повышения коэффициента размножения (29,4-32,2) по сравнению с колбами (23,5-26,4). На питательных средах с БАП не выявлено существенного влияния культурального сосуда на коэффициент размножения. Однако при культивировании эксплантов в банках значительно увеличилось количество оводненных побегов, что крайне нежелательно при микроразмножении.

Таблица 2 – Влияние состава питательной среды и культурального сосуда на развитие побегов на 2-м этапе клонального микроразмножения *in vitro* *T. tauricus*

Состав регуляторов роста в питательной среде МС, мг/л	Коэффициент размножения		Частота оводненных побегов, %	
	банки	колбы	банки	колбы
БАП – 1,0	22,9±3,5	27,8±4,0	63,2±7,2*	40,0±4,2
БАП – 1,0 + ГК ₃ – 1,0	17,3±1,1	16,4±1,8	98,3±10,2	80,4±9,2
БАП – 1,0 + ИУК – 0,5	21,2±2,4	23,4±1,1	55,2±5,2*	34,2±4,2
Кинетин – 1,0	29,4±3,2	23,5±1,8	34,5±4,3*	0
Кинетин – 1,0 + ГК ₃ – 1,0	30,1±1,7	24,0±2,7	44,6±3,4*	0
Кинетин – 1,0 + ИУК – 0,5	32,2±2,5	26,4±2,7	39,5±3,7*	0

Примечание.* Различия достоверны при сравнении типа культурального сосуда при $p \leq 0,05$.

Анализ влияния регуляторов роста в питательной среде на втором этапе микроразмножения показал, что на средах, содержащих в качестве цитокинина кинетин, наблюдалось повышение коэффициента размножения по сравнению с БАП. Добавление в среду с кинетином ГК₃ или ИУК не оказало достоверного влияния на этот показатель.

В результате исследований выявлены эффективные приемы для оптимизации методики клонального микроразмножения *T. tauricus*. При введении в культуру *in vitro* целесообразно использовать пробирки, закрытые фольгой, и питательную среду МС с 1,0 мг/л кинетина и 1,0 мг/л ГК₃. Для получения высокого коэффициента размножения (29,4) и формирования полноценных побегов на втором этапе микроразмножения необходимо культивировать экспланты в колбах со средой МС с 1,0 мг/л кинетина.

Работа выполнена в рамках государственного задания № 0834-2015-0006 и при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований и Республики Крым, грант № 18-416-910008 p_a.

Литература

1. Leal F., Taghouti M., Nunes F., Silva A., Coelho A.C., Matos M. Thymus plants: a review micropropagation, molecular and antifungal activity // Active ingredients from aromatic and medicinal plants. Chap. 7 // Ed. by Hany A. El-Shemy. Pr. Croatia: National and University Library in Zagreb, 2017. P. 107–126.
2. Kulpa D., Wesołowska A., Jadczyk P. Micropropagation and composition of essential oils in garden Thyme (*Thymus vulgaris* L.) // Not Bot Horti Agrobo. 2018. No. 46 (2). P. 525–532.
3. Тевфик А. Ш., Егорова Н. А., Загорская М. С. Особенности морфогенеза эксплантов тимьяна обыкновенного на первом этапе клонального микроразмножения // Таврический вестник аграрной науки. 2018. № 2(14). С. 118–127.
4. Тевфик А. Ш., Егорова Н. А. Особенности морфогенеза эксплантов тимьяна обыкновенного на первом этапе клонального микроразмножения // Таврический вестник аграрной науки. 2019. № 1(17). С. 93–102.
5. Becircan T., Cüce M., Yaşar A., Sökmen A. *In vitro* multiplication and essential oil accumulation of *Thymus leucotrichus* Hal. // II Symposium on EuroAsian Biodiversity. Turkey: Antalya, 2016. P. 366.
6. Nordine A., Bousta D., Meskaoui A. *In vitro* clonal propagation through direct shoot organogenesis of *Thymus broussonetii* – a vulnerable aromatic and medicinal plant species // IPRBS. 2014. Vol. 3. No. 1. P. 425–439.

UDC 633.81:57.085.2

Tevfik A. Sh., Yegorova N. A.

Peculiarities of *Thymus tauricus* Klokov et Des.-Shost. clonal micropropagation

Summary. The aim of the investigation was to study the influence of cultivation conditions and the culture medium composition on the *Thymus tauricus* Klokov et Des.-Shost explants morphogenesis at the 1st-2nd stages of clonal micropropagation. The optimal composition of culture medium at the introduction stage is the MS medium with 1.0 mg/l of kinetin and 1.0 mg/l GA₃. To obtain a high multiplication index (29.4) at the second stage of micropropagation, it is necessary to cultivate explants in flasks with MS medium supplemented with 1.0 mg/l kinetin.

Keywords: *Thymus tauricus*, clonal micropropagation, culture medium, *in vitro*.

DOI 10.33952/2542-0720-2020-5-9-10-99

УДК 633.16:631.527.8

Шуплецова Ольга Наумовна

Получение в селективных системах *in vitro* генотипов ячменя с комплексной устойчивостью к почвенным стрессовым факторам

ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н. В. Рудницкого»
e-mail: olga.shuplecova@mail.ru

Кислая реакция почв с большим количеством подвижного алюминия – основной фактор окружающей среды, снижающий урожайность сельскохозяйственных растений в условиях северо-востока европейской части России. Дополнительной проблемой современного аграрного производства является загрязнение почв тяжелыми металлами – от металлов биофилов (Mn²⁺) до особо токсичных ионов (Cd²⁺). Дефицит влаги в период вегетации растений усугубляет неблагоприятные последствия почвенной ионной токсичности. К почвенным стрессовым факторам среди зерновых культур наиболее чувствителен ячмень (*Hordeum vulgare* L.), потери урожая которого в неблагоприятных условиях достигают 80 % [1–5]. Эффективным способом повышения стрессоустойчивости растений является направленная селекция клеточных культур на селективных средах *in vitro* и получение соматоклонов. Широкому применению клеточной селекции зерновых культур препятствует низкая регенерационная способность в селективных условиях *in vitro* и нестабильность проявления целевых признаков у растений-регенерантов [6–8]. Кроме того, возникают технические трудности при совмещении нескольких стрессовых факторов различной природы в общей селективной системе *in vitro*.

Цель исследований – разработка селективных систем *in vitro* и получение на их основе исходного селекционного материала ярового ячменя, адаптированного к неблагоприятным почвенным условиям – повышенной кислотности, токсичности алюминия и тяжелых металлов, засухе.

В ФГБНУ «ФАНЦ Северо-Востока» разработана биотехнология создания и оценки сортов ячменя, адаптированных к неблагоприятным условиям кислых дерново-подзолистых почв Нечерноземной зоны РФ. Каллусную ткань ячменя индуцировали и культивировали на селективных средах со стрессовыми факторами различной природы и последующей регенерацией растений. Применяли схемы клеточной селекции, включающие одно или два последовательных воздействия селективными агентами на этапах индукции, пролиферации и морфогенеза каллусных культур. Семенное потомство регенерантных линий оценивали в вегетационных и полевых опытах.

В рамках технологии разработаны схемы отбора каллусных линий (соматоклонов) ячменя на селективных средах с использованием различных комбинаций стрессовых факторов: Al³⁺ (20–40 мг/л), H⁺ (4,0–6,0 ед. рН), Cd²⁺ (10–20