

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

мг/л), Mn^{2+} (100–250 мг/л) и осмотик (10–20 % полиэтиленгликоль). Выявлен оптимальный возраст каллусной ткани для проведения клеточной селекции: 2–3-недельный каллус на этапе пролиферации. Внесение в питательные среды абсциссовой кислоты (1,0–1,5 мг/л) или инокуляция каллуса метилотрофными бактериями *Methylobacterium sp.* оказывали фиторегуляторное и протекторное воздействие на морфогенетические процессы каллусной ткани в селективных условиях: повышалась выживаемость (в 2–5 раз) и частота регенерации исследуемых генотипов (в 1,3–7,0 раз), удлинялся период компетентности каллусной ткани (на 1–2 пассажа).

В настоящее время получено более тысячи растений-регенерантов ячменя. Выявлены регенерантные линии, более адаптированные к неблагоприятным почвенным условиям в сравнении с растениями исходных сортов и сортов-стандартов. Сорты, созданные на основе регенерантов, превосходят стандарт по урожайности, имеют высокую продуктивную кустистость (выше стандарта на 29–67,5 %) и плотный колос (выше стандарта на 4,5–6,6 %), как на благоприятных, так и кислых почвенных фонах. Их преимущество обусловлено устойчивостью к полеганию, высоким уровнем выживаемости, всхожести и средообразующей активности корневой системы.

Проведенные исследования подтвердили эффективность использования клеточной селекции в создании сортов ярового ячменя, конкурентоспособных на кислых дерново-подзолистых почвах на территории Нечерноземной зоны РФ. В настоящее время, созданные регенерантные линии рекомендованы для использования в качестве генетических источников устойчивости к неблагоприятным почвенным условиям и для обновления сортовых ресурсов ячменя.

Литература

1. Родина Н. А. Селекция ячменя на Северо-Востоке Нечерноземья. Киров: Зональный НИИСХ Северо-Востока, 2006. 488 с.
2. Неттевич Э. Д. Избранные труды. Селекция и семеноводство яровых зерновых культур. Москва-Немчиновка: НИИСХ ЦРНЗ, 2008. 348 с.
3. Баталова Г. А. Селекция растений в условиях нестабильности агроклиматических ресурсов // Зернобобовые и крупяные культуры. 2012. № 3. С. 20–25.
4. Титов А. Ф., Казнина Н. М., Таланова В. В. Устойчивость растений к кадмию (на примере семейства злаков): учебное пособие. Институт биологии Карельского научного центра РАН. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2012. 55 с.
5. Nagajyoti P. C., Lee K. D., Sreekanth T. V. M. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review // Environmental Chemistry Letters. 2010. Vol.8. No.3. P. 199–216.
6. Долгих Ю. И. Соматоклональная изменчивость растений и возможности ее практического использования (на примере кукурузы). Автореф. дисс. ... докт. биол. наук. М.: Институт физиологии растений имени К. А. Тимирязева, 2005. 45 с.
7. Никитина Е. Д., Хлебова Л. П., Ерещенко О. В. Разработка отдельных элементов технологии клеточной селекции яровой пшеницы на устойчивость к абиотическим стрессам // Известия Алтайского государственного университета. 2014. Т. 2. № 3. С. 50–54.
8. Шуплецова О. Н., Щенникова И. Н. Генетические источники селекции ячменя (*Hordeum vulgare*) в Волго-Вятском регионе // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2019. Т. 180. Вып.1. С. 82–88. DOI: 10.30901/2227-8834-2019-1-82-88.

UDC 633.16:631.527.8

Shupletsova O. N.

Obtaining barley genotypes in selective *in vitro* systems with complex resistance to soil stress factors

Summary. The aim of the work was to develop selective *in vitro* systems and obtain on their basis the initial breeding material of spring barley adapted to adverse soil conditions – increased acidity, toxicity of aluminum and heavy metals, drought. In the process of research, optimal patterns for selecting callus lines on selective media using various combinations of stress factors were identified: Al^{3+} + (20–40 mg/l), H^{+} (4.0–6.0 pH units), Cd^{2+} + (10–20 mg/l), Mn^{2+} + (100–250 mg/l) and osmotic (10–20 % polyethyleneglycol). In

the proposed *in vitro* selective systems, more than a thousand regenerated plants were obtained. Varieties created on the basis of regenerants exceed the standard in yield, have high productive tillering (29.0–67.5 % higher than the standard) and dense spike (4.5–6.6 % higher than the standard). Their advantage is due to resistance to lodging, a high level of survival, germination and environment-forming activity of the root system.

Keywords: soil acidity, stress, barley, callus cultures, selective media, regenerants, competitiveness.

DOI 10.33952/2542-0720-2020-5-9-10-100

УДК 633.81:57.085.2

Якимова Ольга Валерьевна, Егорова Наталья Алексеевна

**Влияние состава питательной среды на индукцию каллусо- и морфогенеза
Melissa officinalis L.**

ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма»

e-mail: olyyakimova@yandex.ru

В связи с возрождением эфиромасличной отрасли в Крыму в последние годы, наряду с традиционными ароматическими растениями (лаванда, роза эфиромасличная, кориандр) активно исследуют и внедряют в производство новые виды эфиромасличных и лекарственных растений, в том числе *Melissa officinalis* L. [1]. *M. officinalis* – многолетнее эфиромасличное, лекарственное и пряно-ароматическое растение, которое применяют в медицине, а также в качестве медоноса и пряности [1]. В ФГБУН «НИИСХ Крыма» проводится селекция, направленная на создание высокомасличных сортов мелиссы лекарственной. Использование биотехнологических приемов позволит повысить эффективность этого процесса.

В настоящее время для многих сельскохозяйственных и декоративных растений разработаны методы клеточной инженерии, позволяющие расширить генетическое разнообразие исходного селекционного материала. Одним из важнейших этапов подобных биотехнологий является регенерация растений из каллусных культур [2]. В литературе встречаются фрагментарные данные, касающиеся индукции непрямого морфогенеза *M. officinalis in vitro*. В связи с этим целью нашего исследования было изучение влияния сорта, гормонального состава питательной среды и типа экспланта на индукцию морфогенеза и регенерацию растений мелиссы лекарственной *in vitro*.

Исследования проводили на трех сортах *M. officinalis* (Цитронелла, Соборная, Крымчанка). В качестве эксплантов использовали сегменты листа, стебля и пазушные почки. Культивирование тканей и органов осуществляли на питательной среде Мурасиге и Скуга (МС) с добавлением 2,4-Д, НУК, БАП, кинетина и тидиазурона (ТДЗ). Экспланты выращивали при 24±2 °С, относительной влажности воздуха 70 %, освещенности 2000–3000 люкс и 16-часовым фотопериодом. В каждом варианте опыта анализировали не менее 20 эксплантов, повторность опыта трехкратная.

Ранее нами разработана методика индукции каллусогенеза *M. officinalis*. При этом максимальную частоту индукции (59,5–92,9 %) и прирост (1,47–1,86 балла) каллуса отмечали на среде МС, дополненной 1,0 мг/л 2,4-Д и 0,5 мг/л БАП [3]. При длительном культивировании каллуса на оптимальной для пассирования каллусов мелиссы питательной среде максимальный прирост массы каллуса (ростовой индекс 11,5–13,7) отмечали в 17–19 пассажах.

Ключевым этапом большинства клеточных технологий является индукция морфогенеза и регенерация растений *in vitro*. Установлено, что на 15–17-е сутки культивирования в некоторых вариантах опыта из тканей экспланта или из первичного каллуса происходило развитие почек, а затем побегов, что может свидетельствовать об индукции органогенеза.