

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.

Выявлено, что на индукцию непрямого морфогенеза оказывали влияние гормональный состав питательной среды, сорт и тип экспланта. При использовании разных эксплантов (лист, стебель, почка) формирование морфогенных очагов наблюдали только в каллусе, полученном из почек. Максимальную частоту регенерации почек и побегов из каллусных тканей у сортов Цитронелла и Крымчанка (28,0 и 20,0 % соответственно) отметили на питательной среде МС, дополненной 1,0 мг/л НУК и 0,5 мг/л БАП, а у сорта Соборная (25,5 %) – на среде с 1,0 мг/л НУК и ТДЗ (таблица).

Таблица – Влияние сорта, состава питательной среды и типа экспланта на индукцию каллусо- и морфогенеза у мелиссы лекарственной

Гормональные добавки в питательной среде МС, мг/л	Сорт	Тип экспланта	Количество жизнеспособных эксплантов, %	Частота каллусо-генеза, %	Частота непрямого морфогенеза, %
НУК – 1,0 БАП – 0,5	Цитронелла	лист	96,0±4,0	100	0
		стебель	33,3±1,8	100	0
		почка	100	84,0±7,5	28,0±1,9
	Соборная	лист	96,9±3,1	100	0
		стебель	40,0±4,1	83,3±10,2	0
		почка	86,9±7,1	80,0±9,1	20,0±0,8
	Крымчанка	лист	93,3±4,6	96,5±3,4	0
		стебель	68,0±7,5	66,7±1,6	0
		почка	89,6±5,7	64,0±6,7	24,0±1,8
НУК – 1,0 ТДЗ – 1,0	Цитронелла	лист	100	75,0±8,1	0
		стебель	72,3±6,3	62,5±5,1	0
		почка	92,0±5,5	82,6±8,1	17,4±0,7
	Соборная	лист	87,1±6,1	84,6±7,2	0
		стебель	0	0	0
		почка	62,9±5,4	82,3±9,5	25,5±1,0
	Крымчанка	лист	78,5±7,8	81,8±8,4	0
		стебель	66,7±8,7	95,2±4,7	0
		почка	46,2±3,2	58,3±1,4	8,3±0,8
2,4-Д – 1,0 БАП – 0,5	Цитронелла	лист	96,7±3,2	86,7±6,3	0
		стебель	76,9±7,2	90,0±10,0	0
		почка	90,9±6,2	90,1±6,8	10,0±1,1
	Соборная	лист	85,7±6,0	100	0
		стебель	72,4±8,4	80,0±9,1	0
		почка	65,2±7,1	93,3±6,7	13,3±1,9
	Крымчанка	лист	33,3±2,8	80,0±10,3	0
		стебель	100	90,0±6,8	0
		почка	68,8±5,3	81,8±8,4	0

В работах иранских ученых показано, что формирование побегов из каллусов (полученных из гипокотилей) у мелиссы, в отличие от наших исследований, происходило на питательной среде с 1,0 мг/л кинетина [4, 5]. Индукции прямого и непрямого морфогенеза из других типов эксплантов (меристем и сегментов листа) эти авторы не выявили.

Таким образом, подобраны питательные среды и эксплант для индукции морфогенеза из каллусных культур сортов мелиссы лекарственной. Из каллусов получены растения-регенеранты, которые будут изучаться в полевых условиях для выявления ценных генотипов. Проведенные исследования являются основой для разработки методики получения соматоклональных вариантов, которые могут служить исходным материалом для селекции.

Литература

1. Паштецкий В. С., Невкрытая Н. В., Мишнев А. В., Назаренко Н. В. Эфиромасличная отрасль Крыма. Вчера, сегодня, завтра. Симферополь: ИТ «АРИАЛ», 2018. 320 с.

2. Калашникова Е. А. Клеточная инженерия: Учебное пособие. М.: РГАУ-МСХА. 2012. 318 с.
3. Якимова О. В., Егорова Н. А. Исследование влияния некоторых факторов на каллусообразование у Melissa officinalis L. в культуре *in vitro* // Вестник Удмуртского университета. Серия «Биология. Науки о земле». 2014. Вып. 4. С. 39–45.
4. Meftahizade H., Lotfi M., Moradkhani H. Optimization of micropropagation and establishment of cell suspension culture in *Melissa officinalis* L. // African J. of Biotechnology. 2010. Vol. 9. No. 28. P. 4314–4321.
5. Meftahizade H., Moradkhani H., Naseri B. [et al.]. Improved *in vitro* culture and micropropagation of different *Melissa officinalis* L. genotypes // J. of Medicinal Plants Research. 2010. Vol. 4. No. 3. P. 240–246.

UDC 633.81:57.085.2

Yakimova O. V., Yegorova N. A.

The influence of the nutrient medium composition on the induction of calluso- and morphogenesis of *Melissa officinalis* L.

Summary. The features of the calluso- and morphogenesis induction during the cultivation of tissues and organs of *Melissa officinalis* depending on endogenous and exogenous factors were revealed. The maximum frequency of callus induction (59.5–92.9 %) was noted on the MS medium with 1.0 mg/l 2.4-D and 0.5 mg/l BAP. The induction of morphogenesis from callus was influenced by the composition of the culture medium, the explant type and cultivar. The maximum frequency of morphogenesis induction (20.0–28.0 % depending on the cultivar) from callus was noted on MS culture medium supplemented with 1.0 mg/L NAA and 0.5 mg/L BAP or 1.0 mg/L NAA and 0.5 mg L TDZ.

Keywords: *Melissa officinalis* L. callusogenesis, morphogenesis *in vitro*.