

Использование прямой схемы клеточной селекции и добавление токсиканта в питательную среду только на этапе культивирования каллусов, позволило получить нам растения-регенеранты. Было получено 30 регенерантов льна, толерантных к меди, в условиях *in vitro* и 21 растение хризантемы килеватой.

Таким образом, нами было показано, что исследуемые объекты очень чувствительны к меди как на уровне целых растений, так и в культуре клеток. Разработаны схемы клеточной селекции для получения декоративных двудольных растений, устойчивых к меди.

#### Литература

1. Ладонина Н.Н., Ладонин Д.В. Загрязнение почв юго-восточного административного округа г. Москвы медью и цинком; Экология, 2000, № 1: 61-65.
2. Титов А.Ф., Таланова В.В., Казнина Н.М., Лайдинен Г.Ф. Устойчивость растений к тяжелым металлам; Институт биологии КарНЦ Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2007: 156.
3. Гладков Е.А. Оценка фитотоксичности комплексного воздействия тяжелых металлов и определение ориентировочно допустимых концентраций для цинка и меди. Сельскохозяйственная биология, № 6, 33-36, 2010.
4. Гладков Е.А., Гладкова О.В. Оценка комплексной фитотоксичности тяжелых металлов и получение растений, обладающих комплексной устойчивостью, Биотехнология, № 1, 81-86, 2007.
5. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassaya with tobacco tissue cultures // *Physiologia Plantarum*, 1962, V. 15: 473-476.
6. Gambourg O.L., Elevegh D. Culture methods and detection of glucanases in suspension cultures of weat and parleys // *Can.J.Biochem*, 1968, 46: 417-421.

#### **Введение в культуру клеток и получение растений брахикомы иберисолистной и хризантемы килеватой**

Литвинова И.И., к.б.н. доц. Гладков Е.А.  
Университет машиностроения  
8 (499) 231-83-34, [ilina-15@ya.ru](mailto:ilina-15@ya.ru)

**Аннотация.** Введены в культуру клеток брахикома иберисолистная, хризантема килеватая. Подобраны оптимальные среды для каллусообразования, регенерации и укоренения растений-регенерантов.

**Ключевые слова:** каллус, регенерация, хризантема, брахикома.

Хризантема килеватая и брахикома иберисолистная широко используются в озеленении города, на клумбах, в миксбордерах, в срезке, обладают удивительной многоликостью красок и продолжительным цветением.

Хризантема килеватая (*Chrysanthemum carinatum* L.) – однолетнее, обильноцветущее, с конца июня по сентябрь, растение, семейство Сложноцветных (Астровые). Соцветия – корзинки, чаще простые, реже полумахровые или махровые, душистые, довольно крупные, 5-7 см в диаметре, различной окраски. Плод – треугольная или сплюснутая семянка с крыловидными выростами. Семена сохраняют всхожесть 2-3 года. Хризантему килеватую часто выращивают на срезку, поскольку ее привлекательные соцветия могут довольно долго стоять в вазе с водой не увядая. Кроме этого она может быть с успехом использована для украшения клумб и рабаток как в одиночных посадках, так и небольшими компактными группами[1].

Брахикома иберисолистная (*Brachycome iberidifolia* L.) – однолетнее сильноветвистое растение, семейство Сложноцветных, высотой 15-25 см с изящными листьями, расположенными в очередном порядке. Кустики несут многочисленные мелкие соцветия – корзинки 3–3,5 см в диаметре. Применяется для оформления клумб, бордюров, альпийский горок, как

горшочная культура, входит в состав мавританского газона, используемого в городском озеленении и на садовых участках [1-2]. Брахикома заслуживает самого широкого использования из-за высокой декоративности и продолжительного цветения.

Обладая высокой декоративностью и неприхотливостью в уходе, эти растения чувствительны к воздействию неблагоприятных факторов окружающей среды, что существенно ограничивает использование их в условиях высокого уровня загрязнения. Для того чтобы повысить толерантность этих растений, можно использовать клеточную селекцию, обязательным условием использования которой является введение в культуру клеток растений [3].

Цель работы: введение в культуру клеток и регенерация растений брахикомы иберисолистной и хризантемы килеватой

### Материалы и методы

В работе использованы семена брахикомы иберисолистной (*Brachycome iberidifolia* L.) сорт Голубая Неженка и хризантемы килеватой (*Chrysanthemum carinatum* L.) сорт Эльдорадо.

В качестве эксплантов использовали семена растений. Экспланты стерилизовали однократной обработкой спиртом с последующей стерилизацией раствором, содержащим гипохлорит натрия в течение 15-30 минут (в зависимости от растения). Затем их три раза промывали стерильной дистиллированной водой. Оптимальное время стерилизации определяли по жизнеспособности первичных эксплантов и зараженности фитопатогенами. Для культивирования *in vitro* применяли агаризованные питательные среды Мурасиге-Скуга (МС) [4] и Гамборга (В5) [5] в сочетании с 3% сахарозы. В качестве регуляторов роста в питательные среды добавляли 2,4-дихлорфеноксиуксусную кислоту (2,4-Д), 6-бензиламинопурин (БАП) и  $\alpha$ -нафтилуксусную кислоту (НУК), индолилуксусную кислоту (ИУК), кинетин в различных концентрациях и комбинациях

### Результаты и обсуждения

Работ по введению культуру клеток брахикомы нет, нами были использованы питательные среды Мурасиге-Скуга и Гамборга. По результатам работы установлено, что каллусы образовывались во всех вариантах опыта, при концентрациях 2,4-Д от 1 до 10 мг/л на средах МС и В5, но на концентрациях 1, 2, 4 мг/л 2,4-Д наблюдалось интенсивное прорастание семян. Процент образования каллусов на среде В5 был больше, чем на среде МС, например на среде МС при концентрации 2 мг/л частота каллусообразования составляла 15,6 %, а на среде В5 – 25,4%. При концентрации 1 мг/л 2,4-Д на питательной среде В5 – интенсивность каллусообразования составляла 11,3%, при концентрации 4 мг/л 2,4-Д – 34,7%, а на среде МС 9,6% и 24,4% соответственно (таблица 1). Каллус образовывался светло-желтого цвета, средней плотности, в течение 10-14 дней.

Добавление в среду 2 мг/л кинетина, в сочетании с различными концентрациями 2,4-Д, увеличивало процент образования каллусов. При добавлении кинетина в среду с 4 мг/л 2,4-Д каллусообразование увеличивалось с 34,7% до 42,1%; при концентрации 8 мг/л 2,4-Д – с 43,3% до 48,1%. Оптимальной средой для каллусообразования брахикомы иберисолистной была среда В5 с 6 мг/л 2,4-Д и 2 мг/л кинетина (56,1%).

Для дальнейшего культивирования и регенерации полученные каллусы брахикомы иберисолистной пересаживали на питательную среду МС с половинным содержанием всех минеральных компонентов ( $\frac{1}{2}$  МС). Для стимулирования процесса образования регенерантов в питательную среду добавляли фитогормоны БАП и НУК в различных концентрациях и комбинациях. Наибольший процент образования регенерантов был на среде  $\frac{1}{2}$  МС с 0,1 мг/л НУК и 2 мг/л БАП (62,3%). Регенеранты образовывались через 2-3 пассажа, темно-зеленого цвета.

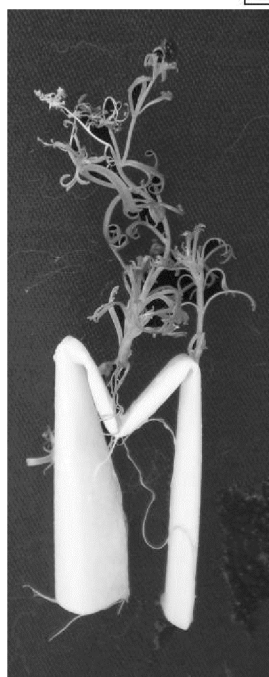
Хризантема оказалась трудоемкой культурой, было рассмотрено большое количество комбинаций питательных сред и фитогормонов для каллусообразования и регенерации растений. К тому же большинство работ по культуре клеток хризантемы связано с микрокло-

нальным размножением хризантемы многолетней, другого вида хризантем (дендрантема) [6-7], так как большинство традиционно относимых к роду *Chrysanthemum* хризантем по современной классификации видов относят к роду *Dendranthema*.

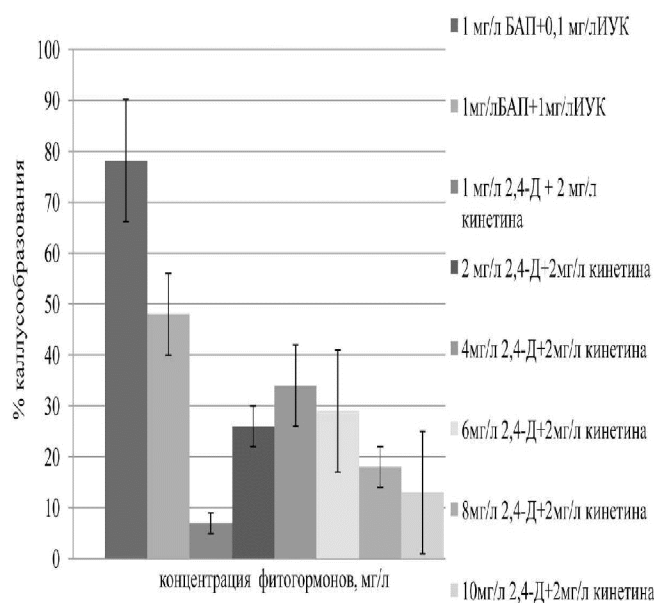
Таблица 1

**Влияние 2,4-Д и Кинетина в питательной среде на интенсивность каллусообразования брахикомы иберисолистной ( $X \pm x$ ).**

Концентрация фитогормонов, мг/л		среде Мурасиге-Скуга	среда Гамборга
2,4-Д	Кинетин	процент образованного каллуса (%)	
1	-	9,6 $\pm$ 1,2	11,3 $\pm$ 1,2
2	-	15,6 $\pm$ 1,9	25,4 $\pm$ 2,2
4	-	24,4 $\pm$ 3,7	34,7 $\pm$ 3,0
6	-	36,9 $\pm$ 4,1	45,5 $\pm$ 3,7
8	-	44,1 $\pm$ 5,3	42,3 $\pm$ 3,1
10	-	45,5 $\pm$ 3,9	31,8 $\pm$ 4,1
1	2	10,6 $\pm$ 1,5	14,0 $\pm$ 1,1
2	2	22,7 $\pm$ 2,1	34,3 $\pm$ 3,9
4	2	28,1 $\pm$ 2,3	42,1 $\pm$ 5,0
6	2	34,5 $\pm$ 3,8	56,1 $\pm$ 3,8
8	2	52,3 $\pm$ 4,4	48,1 $\pm$ 3,3
10	2	42,2 $\pm$ 3,9	31,4 $\pm$ 4,1



**Рисунок 1 – Регенеранты брахикомы иберисолистной с корнями**



**Рисунок 2 – Частота каллусообразования у хризантемы килеватой в зависимости от вида фитогормонов на среде МС**



**Рисунок 3 – Регенеранты хризантемы килеватой с корнями**

Для получения каллусных тканей семена хризантемы высаживали на среды МС содержащие 2,4-Д, кинетин, БАП, ИУК в различных комбинациях и концентрациях. Интенсивное каллусообразования наблюдали при добавлении в питательную среду БАП и ИУК. Максимальное каллусообразование (78,2%) было на среде МС с 1 мг/л БАП и 0,1 мг/л ИУК. Добав-

ление в питательную среду 2 мг/л кинетина в сочетании с различными концентрациями 2,4-Д не привело к интенсификации процесса каллусообразования, частота каллусообразования во всех сочетаниях была менее 40% (рисунки 1 и 2).

Для регенерации была подобрана питательная среда  $\frac{1}{2}$  МС с 0,5 мг/л БАП, через 2-3 пассажа были получены регенеранты (24,8%). Каллусогенез и регенерация растений осложнялась повышенной чувствительностью каллусов к компонентам среды и pH. При культивировании каллусов более 3 недель происходило потемнение каллуса.

Для укоренения растения-регенеранты брахикомы иберисолистной и хризантемы килеватой пересаживали в пробирки на жидкую питательную среду  $\frac{1}{2}$  МС с добавлением 0,1 мг/л НУК, корни образовывались через 1-2 пассажа.

Таким образом, подобраны среды для каллусообразования, регенерации и укоренения для брахикомы иберисолистной: каллусообразования на среде В5 с 6 мг/л 2,4-Д и 2 мг/л кинетина, регенерация растений на среде  $\frac{1}{2}$  МС с 0,1 мг/л НУК и 2 мг/л БАП, укоренение на среде с  $\frac{1}{2}$  МС с 0,1 мг/л НУК; для хризантемы килеватой – каллусообразования на среде 1 мг/л БАП и 0,1 мг/л ИУК, регенерация на  $\frac{1}{2}$  МС с 0,5 мг/л БАП и укоренение на  $\frac{1}{2}$  МС с 0,1 мг/л НУК.

### Литература

1. Колесникова Е.Г. Газоны элементы садового дизайна. КЛАДЕЗЬ-БУКС, М., 2010: 8-9.
2. Ващенко М. Мавританский газон. Цветоводство, 2002, № 2: 9.
3. Гладков Е.А., Долгих Ю.И., Бирюков В.В., Гладкова О.В. Клеточная селекция газонных трав, толерантных к ионам меди, Биотехнология, 2006, № 5, 63
4. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassaya with tobacco tissue cultures // Physiologia Plantarum, 1962, V. 15: 473-476.
5. Gambourg O.L., Elevegh D. Culture methods and detection of glucanases in suspension cultures of weat and parleys // Can.J.Biochem, 1968, 46: 417-421.
6. Матюшкина Т.Ю., Долгов С.В. Разработка методов регенерации и трансформации хризантем (*Chrysanthemum morifolium* Ramat). В сб.: Новые методы биотехнологии растений. Пушино, 1993: 34.
7. Гранда Р. Микрклональное размножение хризантем. Известие ТСХА, 2009, 1: 146-148.

### **Повышение устойчивости полевицы побегоносной (*Agrostis stolonifera* L.) к солям кадмия**

к.б.н. доц. Гладков Е.А., Гладкова О.Н., Глушецкая Л.С.  
 Университет машиностроения  
 8 (499) 231-83-34, gladkovu@mail.ru

**Аннотация.** Разработан биотехнологический метод для повышения устойчивости городской газонной травы полевицы побегоносной к ионам кадмия в окружающей среде. Была выбрана следующая схема селекции - культивирование каллуса на среде МС с добавлением кадмия 10 мг/л в течение 2 пассажей, регенерация на среде МС с добавлением кадмия 20 мг/л, укоренение на среде МС при концентрации кадмия 30 мг / л. Всего в селективных условиях было получено 130 регенерантов полевицы, из которых 58 укоренились в почве. Устойчивость к кадмию сохранялась у семян одного из проверенных регенерантов в четырех поколениях.

**Ключевые слова:** кадмий, клеточная селекция, толерантность, полевица побегоносная

Город представляет собой экосистему, характерной особенностью которой является загрязнение окружающей среды. Городские растения – важнейший элемент экосистемы мега-