

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 ½ 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 рН. При культивировании каллусов более 3 недель происходило потемнение каллуса.

Для укоренения растения-регенеранты брахикома иберисолистная и хризантемы килеватой пересаживали в пробирки на жидкую питательную среду ½ МС с добавлением 0,1 мг/л НУК, корни образовывались через 1-2 пассажа.

Таким образом, подобраны среды для каллусообразования, регенерации и укоренения для брахикома иберисолистная: каллусообразования на среде В5 с 6 мг/л 2,4-Д и 2 мг/л кинетина, регенерация растений на среде 1/2МС с 0,1 мг/л НУК и 2 мг/л БАП, укоренение на среде с ½ 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 ½ МС с 0,5 мг/л БАП и укоренение на ½ 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. Пущино, 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-

полисов. Растения оздоравливают окружающую среду, снижая концентрацию загрязняющих веществ, смягчая летнюю жару и сухость, ионизируют воздух, уменьшают шум и поглощают пыль. Однако городские условия крайне неблагоприятны для произрастания растений. Среди основных загрязнителей почвенного покрова Москвы тяжелые металлы - соли кадмия, цинка, свинца, меди. Содержание химических элементов в почвах города варьируется в широких пределах. Крайне высокие концентрации солей тяжелых металлов фиксируются даже в почвах некоторых скверов и парков. Тяжелые металлы оказывают существенное ингибирующее воздействие на растения, кадмий относится к наиболее фитотоксичным тяжелым металлам (1-2). Высокой чувствительностью к кадмию обладают газонные травы, в частности полевица побегоносная (3). Полевица побегоносная – одна из лучших газонных трав, используется для укрепления берегов водоёмов, дамб, для устройства городских газонов различного назначения как декоративных, так и специальных.

Для качественного озеленения необходимо активное воссоздание и восстановление нарушенных растительных сообществ, что повысит устойчивость городских экосистем. Среди способов решения данной проблемы – восстановление растительного покрова при помощи использования более толерантных видов растений, которое может помочь увеличить видовое разнообразие городских экосистем. Однако большинство дикорастущих местных видов не обладают высокими декоративными свойствами, особенно дикорастущие сорные травы – «заменители» газонных трав. Кроме того, даже толерантные к городским условиям виды не могут вынести высокий уровень загрязнения тяжелыми металлами.

Поэтому необходимость использования в городском озеленении нетрадиционных технологий, которые позволили бы сохранить видовое разнообразие травянистого покрова городов и обеспечили нормальное существование растений в городской экосистеме, в условиях среднего уровня загрязнения, в последние годы ощущается все с большей остротой. С помощью клеточной селекции можно получить растения, устойчивые к загрязнениям почвы (4-6). Технологии клеточной селекции хорошо зарекомендовали себя при получении растений, толерантных к различным экологическим стрессовым факторам: засухе, засолению, низким и высоким температурам и др. Клеточная селекция – это экологически безопасная технология создания адаптивных форм растений, использующая природные резервы изменчивости растений.

Однако клеточная селекция практически не использовалась для решения экологических проблем городов. Требования к городским растениям отличаются от сельскохозяйственных, в первую очередь это сохранение жизнеспособности и декоративных качеств в условиях высокого техногенного загрязнения.

Целью нашей работы было получение газонных растений полевицы побегоносной, обладающих устойчивостью к кадмию.

#### **Материалы и методы**

Основным объектом исследования была газонная трава полевица побегоносная (*Agrostis stolonifera* L).

При получении растений, устойчивых к кадмию в питательную среду добавляли Cd Cl<sub>2</sub> в различных концентрациях.

При добавлении тяжелых металлов в очень высоких концентрациях в твердую питательную среду среда не застывает, поэтому была использована жидкая питательная среда: в чашки Петри помещалась вата, которая была смочена питательной средой, на вату клали фильтровальную бумагу.

Растения-регенеранты для оценки толерантности к неблагоприятным экологическим факторам выращивали в грунте. Для определения устойчивости семена проращивали в водном растворе соли кадмия.

#### **Результаты и обсуждение**

При получении растений, устойчивых к кадмию, разработанные ранее схемы селекции

для получения растений, устойчивых к тяжелым металлам не принесли положительных результатов (4). Возможно, это было связано с очень высокой фитотоксичностью кадмия. Ранее были определены ингибирующие концентрации кадмия в культуре клеток. Пересадка клеток сразу на сублетальную концентрацию селективного агента (20 и 30 мг/л) вызывала гибель большинства клеток, что объясняется низким процентом устойчивых клеток, которые гибнут, отравленные продуктами метаболизма чувствительных клеток (таблица 1).

Таблица 1

#### Влияние кадмия на гибель каллусов

| Концентрация Cd мг/л | Количество каллусов | % гибели каллуса после первого пассажа | % гибели каллуса после второго пассажа |
|----------------------|---------------------|--|--|
| 20                   | 200                 | 58,5± 4,1                              | 74,0± 7,3                              |
| 30                   | 200                 | 84,0± 8,0                              | 90,0± 8,8                              |

Все полученные регенеранты погибали в почве.

Ранее было проведено несколько успешных работ по отбору клеток, толерантных к кадмию. Были выделены клеточная линия дурмана, устойчивая к хлориду кадмия, устойчивость к кадмию сохранилась у клеток дурмана после 400 генераций в неселективных условиях (7) табака, растущая при содержании в среде 100 мкМ CdSO<sub>4</sub> (8). Отселектированная линия *Lycopersicon peruvianum* росла при концентрациях CdSO<sub>4</sub> 1,5 мМ, устойчивость к кадмию сохранялась после 30 генераций в неселективных условиях, а из суспензии клеток культурного томата удалось выделить линию, выдерживающую 5мМ кадмия (8). Во всех перечисленных выше работах получить растения из линий, устойчивых к высоким концентрациям тяжелых металлов не удавалось. Вероятно, это было связано с тем, что обычно использовалась прямая схема селекции и длительное культивирование. Устойчивые растения были получены в единичных работах, получены растения льна-долгунца после клеточной селекции, толерантные к кадмию (9), получены растения пшеницы, обладающие повышенной устойчивостью к кадмию (10).

Таблица 2

#### Влияние кадмия на рост и регенерационную способность каллуса и укоренение растений

| Концентрация кадмия на стадиях культивирования/регенерации/укоренения, мг/л | Процент прироста каллуса по отношению к контролю | % морфоген-ных каллусов | % укоренения в условиях in vitro |
|---|--|-------------------------|----------------------------------|
| 5/10/20   | 70,9±4,6   | 40,5± 4,1               | 50± 5,3                          |
| 5/20/30   | 70,9±4,6   | 18,0± 2,0               | 33,3± 2,8                        |
| 7/20/25   | 56,2±3,3   | 20,5± 2,8               | 50,0± 5,0                        |
| 7/20/30   | 56,2±3,3   | 20,5± 2,1               | 45,3± 2,5                        |
| 7/30/30   | 56,2±3,3   | 16,0± 1,8               | 60,0± 1,8                        |
| 10/20/25  | 51,3±5,6   | 26,0± 2,6               | 60,5± 6,8                        |
| 10/20/30  | 51,3±5,6   | 26,0± 2,6               | 60,5± 5,1                        |
| 10/30/30  | 51,3±5,6   | 16,5± 3,3               | 56,0± 1,8                        |

Нами предложен был иной подход - ступенчатая схема селекции растений, устойчивых к кадмию. Выделить клетки, присутствующие в клеточной популяции с очень низкой частотой можно с помощью отбора на низких концентрациях селективного фактора. На этапе культивирования были выбраны концентрации стрессового фактора- 5,7,10 мг/л кадмия, при которых наблюдалась относительно низкая гибель каллусных клеток (таблица 2). В качестве

селективной была выбрана 10 мг/л кадмия, т.к. эта концентрация была самой высокой на стадии культивирования, при которой затем возможно было получить достаточное количество регенерантов.

Использование 10 мг/л кадмия даже в большей степени сохраняло регенерационную способность, по сравнению с более низкими концентрациями, после пересадке на среды, содержащие 20 и 30 мг/л кадмия (таблица 2). Возможно, каллусные клетки испытывали больший стресс при резком увеличении кадмия в питательной среде. Использование жестких условий (30 мг/л кадмия) на стадии регенерации было менее эффективно. Увеличение количества пассажей приводило к потере регенерационной способности каллусных клеток.

Концентрацию кадмия повышали на стадии регенерации и укоренения, потому что каллус был очень чувствителен к кадмию, повышение концентрации кадмия только на стадии культивирования было менее эффективным, а использование концентрации 10 мг/л кадмия на стадии регенерации и укоренения было нецелесообразным, т.к. полученные растения обладали бы значительно меньшей толерантностью к кадмию.

Была выбрана следующая схема селекции: культивирование каллуса на среде Мурасиге-Скуга (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. Также были получены устойчивые растения при культивировании каллуса на среде МС с добавлением кадмия 10 мг/л в течение 1 пассажа, затем увеличивали концентрацию в следующем пассаже до 20 мг / л, регенерация и укоренение на среде МС с добавлением кадмия 30 мг/л.

Таблица 3

**Влияние кадмия на всхожесть и рост семян устойчивых и обычных растений (%)**

| концентрация кадмия, мг/л | всхожесть исходных растений | рост исходных растений | всхожесть устойчивых растений | рост устойчивых растений | % всхожесть устойчивых растений 2 поколения | %рост устойчивых растений 2 поколения | % всхожесть устойчивых растений 3 поколения | %рост устойчивых растений 3 поколения | % всхожесть устойчивых растений 4 поколения | % рост устойчивых растений 4 поколения |
|---------------------------|-----------------------------|------------------------|-------------------------------|--------------------------|---|---------------------------------------|---|---------------------------------------|---|--|
| 330                       | 56<br>±5,6                  | 64<br>±6,2             | 84<br>±8,2                    | 86<br>±8,3               | 83<br>±8,0                                  | 84<br>±8,1                            | -   | -                                     | -   | -                                      |
| 660                       | 26<br>±2,4                  | 42<br>±3,3             | 56<br>±5,6                    | 67<br>±6,3               | 58<br>±5,1                                  | 67<br>±6,7                            | 60<br>±6,1                                  | 65<br>±5,6                            | 60±<br>6,0                                  | 68±<br>6,9                             |

Всего в селективных условиях было получено 130 регенерантов полевицы, из которых 58 укоренились в почве. Большинство регенерантов полевицы имели нормальную морфологию и хороший рост и не отличались от обычных растений. Однако 10 регенерантов были низкорослы, четыре регенеранта обладали большей кустистостью. Для проверки устойчивости к высоким концентрациям кадмия регенеранты полевицы были высажены в почву с 50 и 100 мг/кг кадмия. 90 % растений, полученных из устойчивых клеточных линий, росли при концентрации 50 мг/кг кадмия так же, как растения в почве без токсиканта. Из 10 растений, растущих при концентрации кадмия 100 мг/ кг почвы, 8 имели рост и декоративные качества, близкие к контролю, одно растение отставало в росте, у другого отсутствовал прирост и наблюдались обильные пожелтения. Таким образом, большинство исследуемых растений продемонстрировали повышенную толерантность к кадмию.

С целью получения семян Cd-устойчивых растений необходимых для осуществления дальнейшей проверки на сохранение признаков устойчивости в следующих поколениях растения-регенеранты были высажены в открытый грунт на садовом участке.

Устойчивость к кадмию сохранялась у семян одного из проверенных регенерантов в четырех поколениях (таблица 3), всего было проверено по 100 семян в первом и втором по-

колении, и 50 семян в 3 и 4 поколениях.

Таким образом, устойчивость к кадмию сохраняется в 4 поколениях, разработанный метод мы можем рекомендовать для получения растений, устойчивых к кадмию.

#### Литература

1. Растения в экстремальных условиях минерального питания. Под ред. Н.В. Алексеевой-Поповой, Л. 1983, 178 с.
2. Гуральчук Ж.З. Механизмы устойчивости растений к тяжелым металлам. Физиология и биохимия культурных растений, Т. 26, № 2, 1994, с. 107-118.
3. Гладков Е.А. Влияние комплексного воздействия тяжелых металлов на растения мегаполисов. Экология, № 1, 2007, 61-64.
4. Гладков Е.А., Долгих Ю.И., Бирюков В.В, Гладкова О.В. Клеточная селекция газонных трав, толерантных к ионам меди. Биотехнология, № 5, 2006, с. 63-66.
5. Гладков Е.А. Клеточная селекция растений, обладающих устойчивостью к тяжелым металлам и засолению. Сельскохозяйственная биология, № 6, 2009, с. 85-88.
6. Гладков Е.А., Гладкова О.В. Оценка комплексной фитотоксичности тяжелых металлов и получение растений, обладающих комплексной устойчивостью. Биотехнология, № 1, 2007, с. 81-86.
7. Jackson P.J. Poly (gamma-glutamylcysteinyl) glycin: its role in cadmium resistance in plant cells. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, vol. 84, №11, 1987, p. 6619-6623.
8. Domozlicka E., Opatrny Z. The effect of cadmium on tobacco cell culture and the selection of potentially Cd-resistant cell lines. Biol. Plant., 31(1), 1989, 19-27.
9. Гончарук Е.А., Калашникова Е.А., Дубравина Г.А., Загоскина Н.В. Влияние кадмия на морфологические и биохимические характеристики чайного растения и льна-долгунца. М., Сельскохозяйственная биотехнология, т. 2, М. 2001, с. 99-111.
10. Мохаммед С.Е., Каранова С.Л., Долгих Ю.И. Получение толерантных к ионам кадмия клеточных линий и растений пшеницы методом клеточной селекции. Материалы Всероссийской конференции «Современные аспекты структурно-функциональной биологии растений и грибов», 23-25 сентября 2010, Орел, с. 155-159.

#### **Легионеллез: причины возникновения, профилактические мероприятия**

Чл.-корр. РАН д.т.н. проф. Систер В.Г., к.т.н. доц. Цедилин А.Н., к.т.н. доц. Иванникова Е.М.

*Университет машиностроения*

8 (499) 267-19-70, vgs001@mail.ru, azedilin@yandex.ru, iegh510@yandex.ru

д.б.н. проф. Тартаковский И.С.

*ФГБУ НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи*

*Министерства здравоохранения и социального развития РФ*

8 (499) 193-30-01, info@gamaleya.org

Шульга Е.Г.

*ООО «Национальная инновационная компания»*

8 (495) 623-58-77, shustava21@mail.ru

*Аннотация.* В статье рассмотрены особенности эпидемиологии легионеллеза, сведения о профилактических мероприятиях.

*Ключевые слова:* легионеллез, дезинфекционные мероприятия.

#### **Введение**

Совершенствуя помещения для повышения оптимальных условий жизнедеятельности, усложняя их конструкции и насыщая их разнообразным инженерным оборудованием, человек создает принципиально новые искусственные экологические ниши, которые в течение определенного времени заполняются адаптированными к их условиям видами организмов.