

## УПРАВЛЕНИЕ МОРФОГЕНЕЗОМ В КУЛЬТУРЕ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ *IN VITRO*

**Киракосян Рима Нориковна**, к.б.н., доцент, доцент кафедры биотехнологии, ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет - МСХА имени К.А.Тимирязева», E-mail: [mia41291@mail.ru](mailto:mia41291@mail.ru)

**Калашникова Елена Анатольевна**, д.б.н., профессор, зав.кафедрой биотехнологии, ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет - МСХА имени К.А.Тимирязева», E-mail: [kalash0407@mail.ru](mailto:kalash0407@mail.ru)

**Аннотация.** В работе приведены результаты по применению вакуумной инфльтрации первичных эксплантов, изолированных с растений разных таксономических групп (*Ipomoea batatas* (L.), *Chrysanthemum indicum* (L.) *Brassica oleracea* L. convar. *botrytis* (L.) Alef. var *cymosa* Duch.). Экспериментально установлено, что предлагаемая технология повышает морфогенетический потенциал культивируемых эксплантов в 4 раза, а для батата – на 30%.

**Ключевые слова:** морфогенез, культура тканей, экспланты, инфльтрация, *in vitro*

**Введение.** Сохранение биоразнообразия растений является глобальной проблемой на современном этапе. Это связано, прежде всего, с изменением климата, увеличением численности населения на планете, ухудшением экологической обстановки. Перспективным направлением исследований, является биотехнология растений, в частности, применение клонального микроразмножения, в результате которого получают высококачественный, генетически однородный посадочный материал [1]. Однако предлагаемые разными авторами технологии, не всегда хорошо воспроизводимы и не обладают высокой экономической эффективностью, из-за низкой реализации соматическими и половыми клетками тотипотентности. Управлять процессами морфогенеза можно факторами гормональной и физической природы, оптимизируя условия выращивания для каждого конкретного растительного объекта [2]. Поэтому поиск новых инновационных методов, направленных на повышение морфогенетической активности клеток *in vitro* остается актуальным направлением исследованием.

Исходя из вышеизложенного, цель работы – поиск альтернативных технологий управления морфогенезом высших растений в культуре *in vitro*.

**Материалы и методы.** Объектом исследования служили изолированные пазушные и верхушечные почки, язычковые лепестки, сегменты междоузлий побегов, изолированные цветочные почки (бутоны), изолированные с растений

разных таксономических групп (*Ipomoea batatas* (L.), *Chrysanthemum indicum* (L.) *Brassica oleracea* L. convar. *botrytis* (L.) Alef. var *cymosa* Duch.).

Перед введением изолированных эксплантов проводили ступенчатую стерилизацию по методике, разработанной нами ранее [3]. Она включает следующие этапы: 1) выдерживание эксплантов в мыльном растворе в течение 10 минут; 2) затем проведение стерилизации растительного материала 0,1% раствором сулемы в течение 3-10 минут в зависимости от экспланта; 3) промывание эксплантов в трех порциях стерильной дистиллированной воды; 4) последующее их культивирование *in vitro* на модифицированной питательной среде Мурасига и Скуга (МС) [4].

После стерилизации и перед введением эксплантов в культуру *in vitro* проводили вакуумную инфльтрацию. Работу выполняли в вакуумной камере (Россия), в которую помещали стерильные пазушные и верхушечные почки, язычковые лепестки, сегменты междоузлий побегов, изолированные бутоны и откачивали воздух (давление - 0,7-0,9 атм.). Спустя 20-40 минут постепенно повышали давление до атмосферного и выдерживали в этих условиях экспланты в течение 1-15 минут. Ключевым моментом является то, что при разности давления происходит заполнение межклеточного пространства исследуемым раствором. В качестве исследуемых растворов брали: 15%-ный раствор препарата Аминовен (4 мл/л) и препарат Дропп (0,1 мг/л). В контрольном варианте все исследуемые экспланты подвергали вакуумной инфльтрацией стерильной дистиллированной водой, или вакуумная инфльтрация не была применена, но экспланты (пазушные и верхушечные почки, язычковые лепестки, сегменты междоузлий побегов, изолированные бутоны) находились в соответствующих растворах.

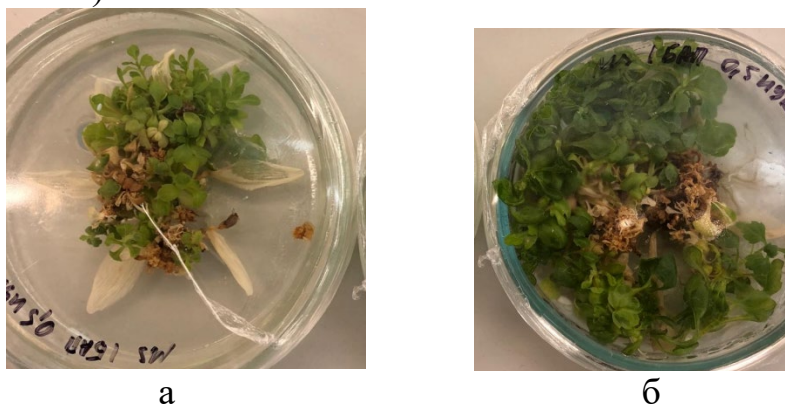
После вакуумной инфльтрации все экспланты переносили на питательную среду, содержащую минеральные соли по прописи МС, БАП в концентрации 1 мг/л, ИУК 0,5 мг/л. рН среды во всех вариантах находился в пределах 5,5-5,8.

Растительный материал культивировали в чашках Петри в условиях климакамеры (Binder, Германия). Исследования проводили в трехкратной повторности. Статистическая обработка результатов проведена по стандартным методикам. Оценка различий выборочных средних проведена при значении доверительной вероятности 0,95.

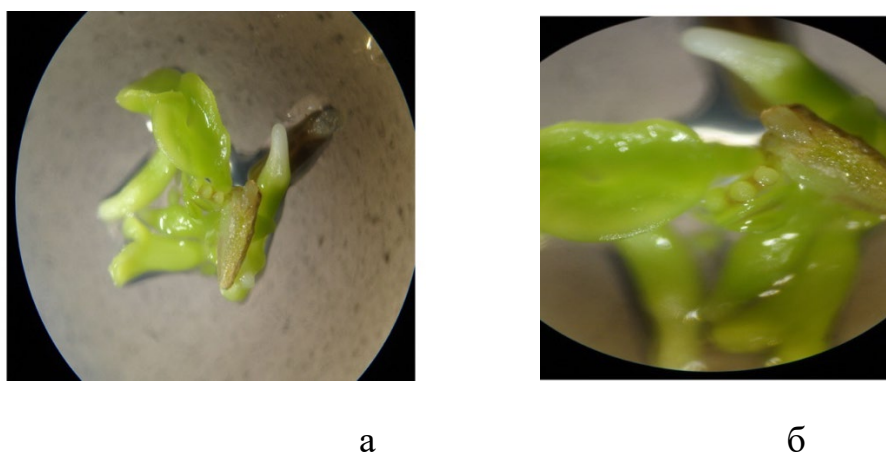
**Результаты и их обсуждение.** Морфогенез высших растений *in vitro* находится под контролем многих факторов, взаимосвязанных между собой. Известно, что управлять морфогенезом можно путем изменения гормонального статуса питательных сред, в частности, изменением соотношения ауксинов и цитокининов. Однако, данный подход не всегда эффективен при изучении морфогенетического потенциала исследуемых эксплантов. Это, вероятно, зависит от того, что применяемые гормоны или другие регуляторные вещества не всегда достигают клетки-мишени, поскольку они не равномерно распределяются по межклеточному пространству. Поэтому необходим поиск эффективных технологий доставки регуляторных факторов к культивируемым

*in vitro* растительным клеткам. Такая технология может быть основана на применении метода вакуумной инфльтрации.

Эксперименты, проведенные нами на эксплантах, изолированных с растений разных таксономических групп, показали, что применение вакуумной инфльтрации эксплантов оказывают существенное влияние на морфогенетическую активность как соматических, так и половых клеток растений. Однако эффективность данного метода зависит от типа первичного экспланта, а также от раствора, в котором они находятся. Установлено, что наиболее значимые результаты получены при использовании изолированных язычковых лепестков (*Chrysanthemum indicum* (L.)) (Рис. 1) и цветочных бутонов (*Brassica oleracea* L. *convar. botrytis* (L.) Alef. *var cymosa* Duch.) (Рис. 2). В этих вариантах частота морфогенеза увеличилась в среднем в 4 раза. Что касается вариантов, в которых в качестве первичного экспланта использовали пазушные, верхушечные почки и сегменты междоузлий побегов (*Ipomoea batatas* (L.)) морфогенетическая активность соматических клеток повысилась всего на 30% (Рис. 3).



**Рис. 1** Формирование адвентивных побегов в базальной части язычковых лепестков хризантемы в контрольном (а) и опытном (б) вариантах



**Рис. 2** Эмбриогенез на изолированных пыльниках *Brassica oleracea* var. *Italica* после вакуумной инфльтрации: а – увеличение x8, б – увеличение x12



а б

**Рис. 3 Формирование пазушных побегов батата в контрольном (а) и опытном (б) вариантах**

**Заключение.** Таким образом, применение вакуумной инфильтрации первичных эксплантов, перед введением их в культуру *in vitro*, растворами регуляторного действия приводит к повышению морфогенетической активности клеток. Предлагаемая технология позволяет значительной степени ускорить клонирование растений, например, новых гибридов и сортов важных сельскохозяйственных растений.

#### **Библиографический список**

1. Калашникова Е.А. Клеточная инженерия растений. Учебник и практикум для вузов. 2-е изд. / Е.А. Калашникова. – М.: Издательство Юрайт, 2020. – 333 с.
2. Калашникова Е.А., Киракосян Р.Н. Современные аспекты биотехнологии. – М.: РГАУ-МСХА, 2016. – 145 с.
3. Калашникова Е.А., Чередниченко М.Ю., Киракосян Р.Н., Зайцева С.М. Лабораторный практикум по культуре клеток и тканей растений. – М.: КноРус, 2017. – 163 с.
4. Murashige T. A, Skoog F. / Revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // *Physiologia Plantarum*. 1962. – V.15. – P.473-497.

#### **MANAGEMENT OF MORPHOGENESIS IN THE CULTURE OF HIGHER PLANTS IN VITRO**

**Kirakosyan R. N. Candidate of Biological Sciences**

**Kalashnikova E.A., D.Sc. in Biological Sciences**

*Russian Timiryazev State Agrarian University - Moscow Timiryazev Agricultural Academy 127550, Russia, Moscow, Timiryazevskaya str., 49*

**Abstract:** *The paper presents the results of the application of vacuum infiltration of primary explants isolated from plants of different taxonomic groups (*Ipomoea batatas* (L.), *Chrysanthemum indicum* (L.) *Brassica oleracea* L. convar. *botrytis* (L.) Alef. var. *cymosa* Duch.). It was experimentally established that the proposed technology increases the morphogenetic potential of cultivated explants by 4 times, and for sweet potatoes-by 30%.*

**Key words:** *morphogenesis, tissue culture, explants, infiltration, in vitro*

УДК 633.2:631.527(571.63)

DOI

## ПОПУЛЯЦИЯ ГИБРИДНЫХ ОБРАЗЦОВ ЕЖИ СБОРНОЙ (*DACTYLIS GLOMERATA L.*) В УСЛОВИЯХ ПРИМОРСКОГО КРАЯ

**Клочкова Наталия Леонидовна**, младший научный сотрудник, полевого и лугопастбищного кормопроизводства, ФГБНУ «ФНЦ агrobiотехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки», E-mail: [Klochova128@mail.ru](mailto:Klochova128@mail.ru)

**Скалозуб Ольга Михайловна**, кандидат сельскохозяйственных наук, научный сотрудник полевого и лугопастбищного кормопроизводства, ФГБНУ «ФНЦ агrobiотехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайка», E-mail: [olga.skalozub@mail.ru](mailto:olga.skalozub@mail.ru)

**Аннотация:** Приведены данные, полученные в результате селекционной работы с многолетними травами в условиях Приморского края в 2018-2020 гг. В селекционных питомниках  $F_1$  выделились 2 гибридных образца ежи сборной Дикорастущая♀ x Аукитуоле♂, Пушкинская♀ x Дикорастущая♂, которые по урожайности зеленой массы превзошли стандарт на 22-32%.

**Ключевые слова:** селекция; семена; ежа сборная; гибрид; сорт.

**Введение.** Ежа сборная (*Dactylis glomerata L.*) – многолетний злак, в травостое может держаться 8-12 лет. По темпам весеннего отрастания не уступает озимой ржи и может заменить ее как источник раннего зеленого корма. В настоящее время в селекции ежи сборной важным направлением является создание специализированных сортов для пастбищного использования, так как это позволяет получать наиболее дешевые корма. Одним из главных направлений селекции является продуктивное долголетие трав отдельных сортов, поэтому селекция направлена на совершенствование методов и создание высококонкурентных сортов многолетних злаковых трав с высокой урожайностью кормовой массы и семян, устойчивостью к неблагоприятным факторам среды и болезням [1,2]. Ежа сборная перспективна для использования в районах Приморья с высоким снежным покровом. Из-за низкой зимостойкости ареал ежи сборной довольно ограничен. Ее можно использовать для получения ранней зеленой подкормки [3].

**Цель.** Изучить хозяйственно-ценные признаки гибридов первого поколения ежи сборной.

**Материалы и Методы.** Изучение селекционных образцов ежи сборной проходило в гибридном питомнике на полях севооборота отдела кормопроизводства ФГБНУ «ФНЦ агrobiотехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки». Почва по механическому составу относится к тяжелым суглинкам. Метеоусловия вегетационного периода 2020 г. характеризовались существенными различиями в распределении осадков и температурном