

УДК 574.24

ПОВЫШЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ *BRACHYCOME IBERIDIFOLIA* И *FESTUCA RUBRA* К ЗАГРЯЗНЕНИЮ ПОЧВ ИОНАМИ МЕДИ

© 2016 И.И. Литвинова¹, Е. А. Гладков^{1,2}, О.В. Гладкова², Ю.И. Долгих^{1,2}

¹ Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, г. Москва

² Московский государственный машиностроительный университет (МАМИ)

Статья поступила в редакцию 25.04.2016

Многие травянистые растения, газонные травы и красивоцветущие растения, используемые в городском озеленении, чувствительны к загрязнению почвенного покрова ионами меди. Объектами исследования являлись овсяница красная и брахикома иберисолистная. Разработаны технологии получения растений овсяницы красной и брахикома иберисолистной, устойчивых к меди. Для получения растений овсяницы, устойчивых к меди, была использована схема селекции, включающая в себя культивирование каллуса на модифицированной среде МС с 150 мг/л меди, регенерация на среде МС с 150 мг/л меди и укоренение растений на среде МС с 150 мг/л меди. Для получения устойчивых растений брахикома иберисолистной была выбрана схема селекции, включающая культивирование каллусов на питательной среде МС с концентрацией меди 20 мг/л в течение 2 пассажей по 26 суток, затем регенерация и укоренение без добавления меди. Большинство полученных регенерантов продемонстрировали повышенную устойчивость к меди.

Ключевые слова: овсяница, брахикома, культура клеток, газон, *in vitro*, клеточная селекция.

Растительность важная часть городской экосистемы, снижающая уровень загрязнения городских экосистем, оздоравливающая окружающую среду. Большое экологическое значение имеет травянистый покров [1]. Однако многие травянистые растения, газонные травы и красивоцветущие растения, используемые в городском озеленении, чувствительны к загрязнению почвенного покрова [2,3]. Среди токсикантов, обладающих высоким уровнем фитотоксичности выделяют тяжелые металлы. Наиболее опасны для растений медь и кадмий, средним уровнем фитотоксичности обладает цинк [2].

Ионы меди существенно снижают декоративные качества растений, поэтому повышение толерантности к меди является важной задачей [4-6]. Для решения данной проблемы можно использовать клеточную селекцию, с помощью которой получают растения устойчивые к различным неблагоприятным экологическим факторам [3,7-9]. Однако, такие работы единичны.

Цель работы – разработка методов клеточной селекции для получения растений овсяницы красной и брахикома иберисолистной, устойчивых к ионам меди.

Литвинова Илина Игоревна, научный сотрудник лаборатории «Генетика культивируемых клеток».

E-mail: ilinalitvinova@gmail.com

Гладков Евгений Александрович, кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры «Биотехнология», научный сотрудник лаборатории «Генетика культивируемых клеток». E-mail: gladkovu@mail.ru

Гладкова Ольга Викторовна, старший преподаватель.

Долгих Юлия Ивановна, профессор, доктор биологических наук.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объекты исследования – овсяница красная и брахикома иберисолистная.

Овсяница красная (*Festuca rubra* L.) – это низовой многолетний злак, используемый при создании газонов различного назначения. Овсяница устойчива к засухе, долговечна, держится в травостое более 10 лет.

Брахикома иберисолистная (*Brachycome iberidifolia* Benth.) относится к классу Двудольные, семейства Астровые. Однолетнее растение с многочисленными эффектными соцветиями. Язычковые цветки белые, синие, голубые, фиолетовые или лилово-розовые, расположены в один ряд; трубчатые – мелкие, синие или почти черные. Большое преимущество данного растения – это раннее, обильное, продолжительное цветение (75-90 дней) и сохранение в течение долгого периода декоративных качеств. Брахикома используется не только при создании цветников, но и для оформления мавританских газонов.

Первичный каллус овсяницы красной получали из прорастающих стерильных семян на модифицированной среде Мурасиге-Скуга (МС), содержащей 3 мг/л 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-Д), 30 г/л сахарозы, 500 мг/л гидролизата казеина и 7 г/л агар-агара. Затем каллус культивировали на среде МС с добавлением 2,4-Д в концентрации 1 мг/л.

Для введения в культуру клеток брахикома иберисолистной использовали среду МС с добавлением 2 мг/л 2,4-Д в сочетании с 2 мг/л кинетина, 30 г/л сахарозы, 500 мг/л гидролизата казеина и 6 г/л агар-агара [10]. В результатах представлены

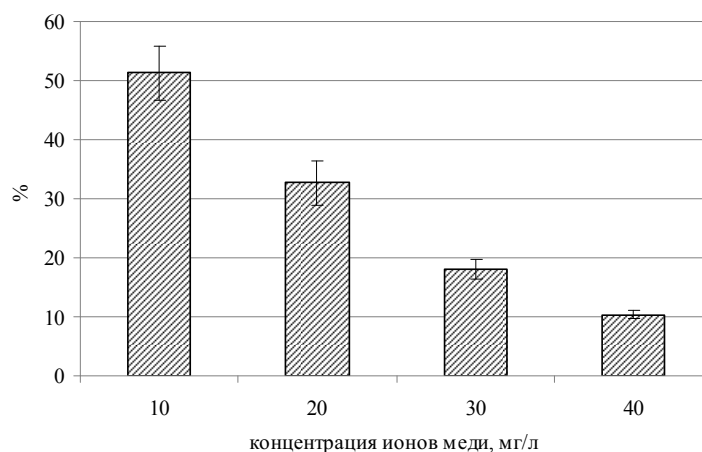


Рис. 1. Влияние ионов меди на выживаемость каллусов брахикомаы иберисолистной, после культивирования в течение 2 пассажей

средние арифметические величины и их стандартные ошибки. Анализ данных проводили с использованием программы Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На основании ранее проведенных исследований действия ионов меди на каллусные ткани овсяницы красной, концентрация меди 150 мг/л была выбрана в качестве селективной. При данной концентрации, несмотря на значительную гибель каллусов, жизнеспособность сохранялось у 40% каллусов, часть выживших каллусов (18%) сохранило способность к регенерации.

Для получения растений овсяницы, устойчивых к меди, была использована схема селекции, включающая в себя культивирование каллуса на модифицированной среде МС с 150 мг/л меди, регенерация на среде МС с 150 мг/л меди и укоренение растений на среде МС с 150 мг/л меди. Из 750 каллусов было получено 32 регенеранта в условиях *in vitro*, 10 растений успешно укоренились в почве. Исследуемые регенеранты продемонстрировали повышенную устойчивость к ионам меди, по сравнению с исходными растениями. Все регенеранты при содержании 150 мг/кг меди росли лучше, чем исходные растения, у четырех регенерантов прирост был как у растений, растущих в почве без меди.

Каллусы брахикомаы оказались намного чувствительнее овсяницы красной к ионам меди. Ингибирующее действие проявлялось в первом пассаже через 10-14 суток от начала опыта, при культивировании каллусов на питательной среде с добавлением меди в концентрации 10 мг/л. Часть каллусов приобретала желтую или коричневую окраску. При увеличении концентрации ионов меди токсическое действие значительно усиливалось, например, при содержании меди 40 мг/л большая часть каллусов погибала. Выжившие клетки теряли морфогенную активность, становились менее плотными, оводненными.

Для отбора устойчивых клонов брахикомаы была выбрана селективная концентрации меди

20 мг/л. При данной концентрации выживает 32% каллусов, после культивирования в течение 2 пассажей (рис. 1). Для получения устойчивых растений брахикомаы иберисолистной была выбрана схема селекции включающая – культивирование каллусов на питательной среде МС с концентрацией меди 20 мг/л в течение 2 пассажей по 26 суток, затем регенерация и укоренение без добавления меди. В результате проведенной селекции было получено 27 растений брахикомаы иберисолистной, из них 12 высажено в открытый грунт. Большинство полученных регенерантов продемонстрировали повышенную устойчивость к концентрации меди 20 и 30 мг/л в водных растворах и в почвенных условиях к 30 мг/кг, в отличие от контрольных растений.

Таким образом, с помощью клеточной селекции удалось повысить толерантность брахикомаы иберисолистной и овсяницы красной к повышенному содержанию ионов меди в почвенном покрове городов. Полученные растения овсяницы красной переносят высокий уровень загрязнения медью, брахикомаы иберисолистной – средний

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Котляр М. Я.* Экологические особенности озеленения населенных пунктов западного Забайкалья: дис. ... канд. биол. наук. Улан-Удэ, 2009. 160 с.
2. *Gladkov E. A.* Zinc as the environmental factor of urban ecosystems // *Ecology, Environment and Conservation*. 2016, №1. P.439-442.
3. *Gladkov E. A., Dolgikh Y. I., Gladkova O. V.* Increasing ecological valence plants to lead // *Ecology, Environment and Conservation*. 2016, №1. P. 443-446.
4. Доклад о состоянии окружающей среды в городе Москве в 2012 году. Департамент природопользования и охраны окружающей среды города Москвы. 2013. URL: <http://www.mosecom.ru/reports/2012/report2012.pdf> (дата обращения 20.03.2016).
5. *Попова Л. Ф.* Химическое загрязнение урбоэкоистемы. Монография, Архангельск, 2013.
6. Использование новых методов очистки урбанизированных почв от тяжелых металлов/ *Савич В. И.,*

- Белопухов С.Л., Никиточкин Д.Н., Филиппова А.В. // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2013. № 6 (44). С. 203-205
7. Zinc-induced changes in morphophysiological and biochemical parameters in *Artemisia annua* / Khudsar T., Mahmooduzzafar, Iqbal M., Sairam R.K. // Biol. Plant. 2004. V. 48, № 2. P. 255–260.
8. Cadmium resistance in tobacco plants expressing the mus1 gene. / Y.-N. Kim, J.-S. Kim, S.-G. Seo, Y. Lee, S.-W. Baek, I.-S. Kim, H.-S. Yoon, K.-R. Kim, S.-H. Kim, K.-H. Kim // Plant Biotechnology Rep. 2011. № 5. P. 323–329
9. Somatic embryogenesis of the heavy metal accumulator *Prosopis laevigata* / L. Buendia-Gonzalez, M. E. Estrada-Zuniga, J. Orozco-Villafuerte, F. Cruz-Sosa, E. J. Vernon-Carter // Plant Cell Tiss. Organ Cult., 2012, № 108. P. 287–296
10. Литвинова И.И., Гладков Е.А. Введение в культуру клеток растений, используемых в качестве кормовых, лекарственных и декоративных, для получения стрессоустойчивых форм // Сельскохозяйственная биология. 2012. № 4. С. 94-99.

INCREASED RESISTANCE *BRACHYCOME IBERIDIFOLIA* AND *FESTUCA RUBRA* TO SOIL COPPER IONS

© 2016 I.I. Litvinova¹, E.A. Gladkov², O.V. Gladkova², Y.I. Dolgikh²

¹ Timiryazev Institute of Plant Physiology, Russian Academy of Sciences, Moscow

² Moscow State University of Mechanical Engineering (MAMI)

Many lawn grasses and flowering plants used in city landscaping, are sensitive to pollution of soil copper ions. The objects of study were *Festuca rubra* and *Brachycome iberidifolia*. The technologies for the production of plants *Festuca rubra* and *Brachycome iberidifolia* resistant copper. For *Festuca rubra* plants resistant to copper was used selection scheme comprising culturing callus on MS modified medium with 150 mg / l of copper, regeneration on MS medium with 150 mg / l of copper and rooting plants on MS medium with 150 mg / l copper. For *Brachycome iberidifolia* were used selection scheme comprising culturing callus on MS medium with a copper concentration of 20 mg / l for 26 days, 2 passages, and then rooting regeneration without addition of copper. Most derived regenerants showed increased resistance to copper. **Keywords:** festuca, brachycome, cell culture, lawn, in vitro, cell selection.

Irina Litvinova, Research Laboratory "The genetics of cultured cells". E-mail: ilinalitvinova@gmail.com;

Evgeny Gladkov, Candidate of Biological, Associate Professor, Department of "Biotechnology", "Genetics of Cultured Cells" Research Laboratory. E-mail: gladkovu@mail.ru

Olga Gladkova Victorovna, Senior Lecturer.

Julia Dolgikh, Professor, Doctor of Biological.