

ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ РАСТЕНИЙ

PLANT PHYSIOLOGY AND BIOCHEMISTRY

DOI: 10.12731/2658-6649-2025-17-4-1212

EDN: DHPANG

УДК 631.53:581.143.6



Научная статья

**ВЛИЯНИЕ ИОНОВ ЦИНКА И МЕДИ НА
МОРФОГЕНЕЗ *ROBINIA PSEUDOACACIA* L.
В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*****О.О. Жолобова, Т.В. Терещенко****Аннотация**

Обоснование. Модификация состава и концентрации микроэлементов питательной среды дает возможность провести качественную оценку влияния ионов металлов на морфогенный потенциал растений *in vitro*.

Цель. Изучить влияние различных концентраций цинка и меди в культуральной среде на морфогенную активность проростков и растений-регенерантов *Robinia pseudoacacia* для оптимизации технологии микрклонального размножения.

Материалы и методы. Исследование проводилось на базе лаборатории биотехнологий ФНЦ агроэкологии РАН с использованием семенного материала и микропобегов *R. pseudoacacia*. В качестве основной питательной среды использовали протокол Мурасиге и Скуга без добавления фитогормонов. В эксперименте использовали следующие диапазоны концентраций солей цинка и меди: $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ (от 1,875 до 30 мг/л) и $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ (от 3,75 до 60 мг/л). Оценивали длину побега, количество междоузлий и листьев, длину сформированных корней, окраску листовой пластины. Статистическая обработка данных осуществлялась с помощью пакета прикладных программ Statistica 12 (StatSoft, USA).

Результаты. Определена морфогенная роль ионов цинка и меди в культуральной среде при микрклональном размножении *Robinia pseudoacacia*. Для проростков и микропобегов *R. pseudoacacia* стимулирующее действие

оказала концентрация сульфата цинка 15 мг/ле. Ионы Zn в диапазоне концентраций от 1,875 до 15 мг/л в целом проявляли стимулирующий характер воздействия на процессы гемморизогенеза. Добавление ионов меди в исследуемом диапазоне проявлялось в постепенном угнетении морфогенного потенциала, как проростков, так и культивируемых микропобегов *R. pseudoacacia*. Высокие концентрации сульфата меди 30 и 60 мг/л являлись сублетальными для микропобегов *R. pseudoacacia*.

Заключение. Полученные результаты показывают, что исследованные концентрации ионов цинка могут быть использованы как эффективные стимуляторы морфогенеза *R. pseudoacacia* в культуре *in vitro*.

Ключевые слова: *Robinia pseudoacacia* L.; цинк; медь; морфометрические показатели; *in vitro*

Для цитирования. Жолобова, О. О., & Терешченко, Т. В. (2025). Влияние ионов цинка и меди на морфогенез *Robinia pseudoacacia* L. в культуре *in vitro*. *Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture*, 17(4), 25-44. <https://doi.org/10.12731/2658-6649-2025-17-4-1212>

Original article

INFLUENCE OF ZINC AND COPPER ON THE *IN VITRO* MORPHOGENESIS OF *ROBINIA PSEUDOACACIA* L.

O.O. Zholobova, T.V. Tereshchenko

Abstract

Background. Modification of the composition and concentration of microelements in the nutrient medium makes it possible to qualitatively assess the effect of metal ions on the morphogenic potential of plants *in vitro*.

Purpose. To study the effect of various zinc and copper concentrations in the culture medium on the morphogenic activity of *Robinia pseudoacacia* seedlings and regenerated plants to optimize the technology of microclonal propagation.

Materials and methods. The study was conducted at the Biotechnology Laboratory of the Federal Scientific Center of Agroecology of the Russian Academy of Sciences using *R. pseudoacacia* seed material and microshoots. The Murashige and Skoog protocol without the addition of phytohormones was used as the main nutrient medium. The following ranges of zinc and copper salt concentrations were used in the experiment: $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ (from 1.875 to 30

mg/l) and $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ (from 3.75 to 60 mg/l). The shoot length, number of internodes and leaves, length of formed roots, and color of the leaf blade were estimated. Statistical data processing was performed using the Statistica 12 software package (StatSoft, USA).

Results. The morphogenic role of zinc and copper ions in the culture medium during microclonal propagation of *Robinia pseudoacacia* was determined. For *R. pseudoacacia* seedlings and microshoots, a stimulating effect was exerted by a zinc sulfate concentration of 15 mg/l. Zn ions in the concentration range from 1.875 to 15 mg/l generally showed a stimulating effect on the processes of hemorrhizogenesis. The addition of copper ions in the studied range was manifested in a gradual inhibition of the morphogenic potential of both seedlings and cultivated microshoots of *R. pseudoacacia*. High concentrations of copper sulfate of 30 and 60 mg/l were sublethal for *R. pseudoacacia* microshoots.

Conclusion. The obtained results show that the studied concentrations of zinc ions can be used as effective stimulators of *R. pseudoacacia* morphogenesis *in vitro* culture.

Keywords: *Robinia pseudoacacia* L.; zinc; copper; morphometric parameters; *in vitro*

For citation. Zholobova, O. O., & Tereshchenko, T. V. (2025). Effect of zinc and copper ions on the morphogenesis of *Robinia pseudoacacia* L. *in vitro* culture. *Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture*, 17(4), 25-44. <https://doi.org/10.12731/2658-6649-2025-17-4-1212>

Введение

Среди микроэлементов, оказывающих влияние на рост и развитие растений, особый интерес представляют те металлы, которые являются жизненно необходимыми компонентами питания растений при условии их содержания в незначительных количествах. Когда концентрации биогенных микроэлементов возрастают, они становятся токсичными [12]. Отклик растений на влияние тяжелых металлов зависит от видовой принадлежности, экотипа, стадии роста, концентрации, времени экспозиции и специфически проявляется на различных уровнях организации биологических систем [6].

Культура изолированных тканей и органов растений является уникальной биологической системой и эффективным инструментом для проведения исследований по изучению адаптивных реакций регенерантов в ответ на изменения условий культивирования. Модификация состава и концентрации микроэлементов питательной среды, несмотря на существование

стандартных протоколов, дает возможность провести качественную оценку влияния ионов металлов на рост и развитие растений *in vitro*.

Анализ литературных данных позволяет выделить три основных направления практического использования влияния микроэлементов на морфогенез растений. Самым ранним, наиболее изученным и востребованным является использование достаточно высоких доз (сублетальных и летальных) концентраций подвижных форм тяжелых металлов для получения и селекции генотипов, устойчивых к неблагоприятным воздействиям внешней среды. Так, при изучении влияния токсического действия высоких доз (808-1313 мг/л) цинка (Zn) на жизнеспособность пробирочных растений-регенерантов *Fagopyrum esculentum* Moench удалось получить исходный материал гречихи с использованием селективных сред, перспективный для дальнейшей селекции [2-5].

В своей работе Седов К.А. с соавт. (2012) использовали семена льна многолетнего (*Linum perenne* L.) сорта Синий Шелк и хризантемы килеватой (*Chrysanthemum carinatum* L.) сорта Эльдорадо. После проращивания в асептических условиях культивировали их в течение 14-30 суток при наличии в средах ионов меди в концентрациях от 10 до 100 мг/л. Были определены селективные концентрации меди для каждого вида и предложена схема селекции для получения растений-регенерантов, устойчивых к меди [10]. Для микроклонов многолетнего кустарника вейгелы цветущей *Weigela florida* «Variegata» были отработаны этапы скрининга генотипов, адаптированных к условиям засоления и повышенного содержания ионов меди с применением трехступенчатого эксперимента *in vitro* [8].

Проведённые эксперименты по определению диапазонов концентраций тяжелых металлов, при которых они оказывают стимулирующее, нейтральное и угнетающее действие на растения, свидетельствуют о возможности развития второго направления – биотестирования для определения пригодности конкретных растений для фиторемедиации. Реализацию данного направления можно отметить в работе А.А. Ермошина и соавт. (2020), которые изучали показатели роста двух видов бурачка – *Alyssum tortuosum* Waldst. & Kit. Ex Willd. и *Alyssum litvinovii* Knjaz. (гипераккумуляторы никеля), и клевера *Trifolium repens* L. (как космополитного вида), выращенных в асептической культуре в среде с высоким содержанием ионов меди и никеля. Были обнаружены генотипы растений, выживающие на 200 мкМ Cu^{2+} в среде, что может быть перспективно для их использования на почвах с полиметаллическим загрязнением [7].

Третье важное направление – возможность за счет применения умеренных и низких концентраций солей тяжелых металлов добиваться ускорения и улучшения морфометрических показателей на отдельных этапах культивирования растений. Так, при концентрации сульфата цинка в среде, равной 0,04 мМ происходило увеличение длины 9-дневных проростков *Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub. [20]. В опытах с растениями ячменя (*Hordeum vulgare* L.) наибольший стимулирующий эффект наблюдали в присутствии 0,15 мМ сульфата цинка в среде [17]. Также отмечено стимулирующее влияние цинка (0,005 мМ) на длину корня кукурузы [16]. Изучена морфогенная роль меди и цинка при микроклональном размножении важного лекарственного кустарника *Rauvolfia serpentina* (L.) Benth. и финиковой пальмы *Phoenix dactylifera* L. [13; 23].

Таким образом, исследование влияния различных доз тяжелых металлов в культуре *in vitro* перспективно как для реализации селекционных программ и фиторемедиации, так и для улучшения всхожести семян, скорости вегетативного роста и индукции ризогенеза *in vitro*.

Проблемы аридизации климата и опустынивания территорий, деградации и разрушения почв ставят первостепенными проекты по выведению новых стрессоустойчивых генотипов древесных пород для создания системы защитных лесных насаждений. *Robinia pseudoacacia* L. является одной из наиболее ценных и быстрорастущих лесообразующих пород для условий полупустыни, отличающаяся такими биологическими особенностями как: засухоустойчивость, солеустойчивость и скорость роста [1]. Разработка технологии микроклонального размножения данного вида позволит массово получать ценные генотипы для проведения агролесомелиоративных мероприятий и реализации ускоренного селекционного процесса в культуре изолированных тканей.

Цель исследования – изучить влияние различных концентраций цинка и меди в культуральной среде на морфогенную активность проростков и растений-регенерантов *Robinia pseudoacacia* для оптимизации технологии микроклонального размножения.

Материалы и методы

Работа проводилась на базе молодежной лаборатории биотехнологий ФНЦ агроэкологии РАН в течение 2022-2023 г. Семенной материал *R. pseudoacacia* был собран с коллекционного участка в сухой степи семеноводческого комплекса в Кировском лесничестве г. Волгоград, где содер-

жится архив отобранных генотипов, перспективных для лесоразведения в засушливом регионе (кадастровый номер 34:26:050301:104).

Семена *R. pseudoacacia* предварительно скарифицировали: ошпаривали горячей водой (90°C) и оставляли до полного ее остывания. При введении в асептическую культуру семена погружали на 1 минуту в 70% спирт, затем промывали стерильной дистиллированной водой и выдерживали в 7% растворе «Лизоформин 3000» (глутаровый альдегид 9,5%) в течение 10 минут, после чего 3–4 раза промывали в воде и помещали на питательные среды. Энергию прорастания фиксировали на 5 день, всхожесть на 12 день. На 20 день оценивали морфометрические показатели проростков.

В качестве основной питательной среды использовали протокол Мурашиге и Скуга [21], дополненный сахарозой (30 г/л) и агаром (7 г/л), содержание $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ в котором составляет 8,6 мг/л, а $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ 0,025 мг/л (контроль). В эксперименте использовали следующие концентрации солей цинка и меди, которые были добавлены к основному протоколу: $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ (Zn 1,875 мг/л; Zn 3,75 мг/л; Zn 7,5 мг/л; Zn 15 мг/л; Zn 30 мг/л) и $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ (Cu 3,75 мг/л; Cu 7,5 мг/л; Cu 15 мг/л; Cu 30 мг/л; Cu 60 мг/л).

В эксперименте использовали сегменты побегов 1,5–2,0 см с двумя междоузлиями, которые помещали в биологические пробирки с 15 мл питательной среды. Растения культивировали на фитостеллажах (СТЕЛЛАР-ФИТО LINE, Россия) в течение 45 дней при температуре 22–24°C, интенсивность освещения 70–85 мкмоль $\text{м}^{-2} \text{с}^{-1}$, фотопериод 16 часов. Исследование проводили в трехкратной повторности, для каждой концентрации анализировали по 30 эксплантов. Оценивали следующие морфологические показатели: длину побега, количество междоузлий и листьев, длину сформированных корней, окраску листовой пластины.

Результаты статистически обработаны с использованием программы Statistica 12 компании StatSoft Inc. и представлены в виде средней арифметической с учетом ошибки среднего. Сравнение полученных результатов между собой проводили по LSD Post Hoc тесту. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Семена *R. pseudoacacia* после предварительной скарификации начали прорастать в культуре *in vitro* на второй день. Увеличение концентрации цинка или меди в питательных средах не имело значительного влияния ни на энергию прорастания, значение которой находилось в пределах 50–75%, ни на всхожесть (65–90%). Максимальные значения всхожести отмечались

на средах с содержанием Zn 1,875 мг/л и Cu 60 мг/л, но статистически значимых различий по сравнению с контролем и другими экспериментальными средами зафиксировано не было (рис. 1).

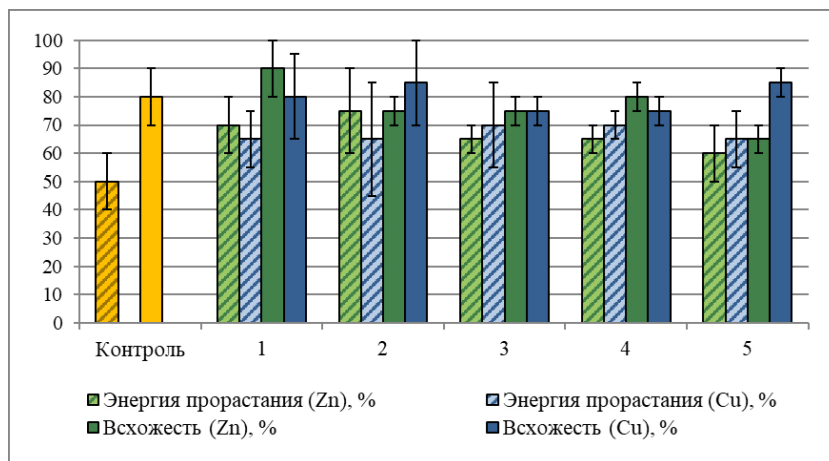


Рис. 1. Энергия прорастания и всхожесть *Robinia pseudoacacia* на питательных средах с металлами по сравнению с контролем

Примечание: Контроль представлен показателями энергии прорастания в % (штриховка) и всхожестью в %; 1 – концентрация Zn 1,875 мг/л, Cu 3,75 мг/л; 2 – Zn 3,75 мг/л, Cu 7,5 мг/л; 3 – Zn 7,5 мг/л, Cu 15 мг/л; 4 – Zn 15 мг/л, Cu 30 мг/л; 5 – Zn 30 мг/л, Cu 60 мг/л.

Несмотря на хорошие посевные качества семенного материала, отличающиеся высокими показателями энергии прорастания и всхожестью, увеличение в питательных средах концентрации цинка и меди оказывало влияние на реализацию ростового потенциала и морфометрические показатели проростков *R. pseudoacacia*, которые были зафиксированы на 20 день после появления первых всходов (таблица 1).

Исследуемый диапазон концентраций цинка оказывал положительное влияние на морфометрические показатели проростков, длина hypocotyle и epicotyle на контроле и повышенных концентрациях цинка 15 и 30 мг/л статистически значимо не различались и имели максимальные значения. Показатели общей длины проростков *R. pseudoacacia* находились в пределах от 7,83 см (контроль) и 8,83 см (Zn 30 мг/л), понижение значений этого параметра были отмечены только на двух экспериментальных средах с Zn 1,875 и 3,75 мг/л.

Таблица 1.

Морфометрические показатели проростков *Robinia pseudoacacia*

Вариант	Длина гипокотили, см	Длина эпикотили, см	Длина корня, см	Общая длина проростка, см
Цинк ($\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$)				
Контроль	$1,90 \pm 0,21$ аб	$3,57 \pm 0,29$ а	$2,36 \pm 0,24$ бв	$7,83 \pm 0,74$ аб
30 мг/л	$2,24 \pm 0,23$ а	$3,61 \pm 0,33$ а	$2,98 \pm 0,49$ б	$8,83 \pm 1,05$ а
15 мг/л	$1,87 \pm 0,13$ аб	$2,79 \pm 0,24$ аб	$3,30 \pm 0,42$ аб	$7,96 \pm 0,79$ аб
7,5 мг/л	$2,03 \pm 0,22$ аб	$2,46 \pm 0,27$ б	$4,21 \pm 0,55$ а	$8,70 \pm 1,04$ аб
3,75 мг/л	$1,91 \pm 0,16$ аб	$2,56 \pm 0,25$ б	$2,48 \pm 0,31$ бв	$6,95 \pm 0,72$ бв
1,875 мг/л	$1,59 \pm 0,14$ б	$2,41 \pm 0,36$ б	$1,57 \pm 0,20$ в	$5,57 \pm 0,70$ в
Медь ($\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$)				
Контроль	$1,90 \pm 0,21$ а	$3,57 \pm 0,29$ а	$2,36 \pm 0,24$ б	$7,83 \pm 0,74$ аб
60 мг/л	$1,33 \pm 0,08$ г	$1,96 \pm 0,28$ в	$0,50 \pm 0,04$ в	$3,98 \pm 0,40$ д
30 мг/л	$1,36 \pm 0,08$ вг	$2,85 \pm 0,20$ бв	$1,12 \pm 0,09$ в	$5,33 \pm 0,37$ г
15 мг/л	$1,48 \pm 0,17$ бвг	$2,50 \pm 0,23$ бв	$2,07 \pm 0,22$ б	$6,05 \pm 0,62$ вг
7,5 мг/л	$1,78 \pm 0,16$ абв	$2,42 \pm 0,19$ бв	$2,23 \pm 0,35$ б	$6,43 \pm 0,70$ бв
3,75 мг/л	$1,82 \pm 0,15$ аб	$2,97 \pm 0,24$ аб	$3,61 \pm 0,42$ а	$8,40 \pm 0,81$ а

Примечание: в таблице представлены средние значения $\pm$ ошибка среднего, различные буквы (здесь и далее) в столбце означают статистические различия согласно LSD Post Hoc тесту при $p < 0,05$.

Цинк в концентрациях 7,5 и 15 мг/л оказывал положительное влияние на развитие зародышевого корешка и формирование разветвленной корневой системы, длина которой составила 4,21 и 3,30 см, данные значения были на 44 и 29% выше контроля (рис. 2 а, е).

В работах Mangal et al. (2013) было отмечено негативное влияние на длину корня и побега проростков бамии и ластерной фасоли при концентрации 0,17 мМ сульфата цинка [19]. Для проростков *R. pseudoacacia* концентрация цинка в этом диапазоне также снижала ростовые показатели длины проростка и его корня. Возрастание концентрации ионов цинка до 2,1 мМ оказывало ингибирующее действие на размеры проростков томатов [14], что не согласуется с результатами нашего эксперимента и указывает, прежде всего, на видоспецифичность реакции исследуемых растений. Для *Pisum sativum* L. стимулирующие концентрации ионов цинка были ограничены пределами 0,02 – 0,2 мМ. Присутствие возрастающих концентраций

сульфата цинка в среде (до 10мМ) приводило к незначительному снижению прорастания семян и находилось в пределах ошибки измерения [9].



Рис. 2. Проростки *Robinia pseudoacacia* на экспериментальных питательных средах: а – контроль, б – Cu 15 мг/л, с – Cu 60 мг/л, d – Zn 3,75 мг/л, е – Zn 15 мг/л, f – Zn 30 мг/л

Добавление ионов меди в питательную среду в количестве 3,75 мг/л стимулировало развитие корневой системы у проростков *R. pseudoacacia*, данный показатель превосходил контроль в 1,5 раза и был максимальным среди всех экспериментальных сред. Остальные показатели длины проростков не имели значимых различий с контролем. С увеличением концентрации меди прослеживалась обратная зависимость по всем показателям в сторону уменьшения. Токсическое действие меди на проростки, проявляющееся в утолщении основного корня, подавлении образования корневых волосков и хлорозе формирующихся настоящих листьев эпикотили, отмечено при концентрации 60 мг/л CuSO_4 (рис. 2 а, b, с). Схожие процессы по морфометрическим показателям проростков *Alisma gramineum* и *Rumex maritimus* были отмечены в работе Тимофе-

ею с соавторами при изучении действия ионов меди в концентрациях 50 и 100 мг/л [11].

Морфометрические характеристики проростков *R. pseudoacacia* были не так чувствительны к добавлению ионов цинка в питательные среды по сравнению с культивированием микропобегов на экспериментальных средах с такими же концентрациями сульфата цинка (рис. 3). После 6 недель культивирования длина побега была максимальной при концентрации цинка 15 мг/л и превышала контроль в 1,7 раз. Минимальные значения этого показателя были отмечены на контроле и средах с незначительным увеличением концентраций цинка 1,875 и 3,75 мг/л. У микрорастений *R. pseudoacacia* на всех вариантах исследуемых концентраций отмечались процессы ризогенеза в 80 – 90 % случаях. При этом длина и количество корней второго порядка были максимальными при концентрации Zn 15 мг/л. Стимулирующее влияние на формирование и развитие корневой системы было зафиксировано в диапазоне концентраций ионов цинка от 1,875 до 15 мг/л. Это связано с участием цинка (в составе ферментов) в синтезе триптофана, прямого предшественника индолилуксусной кислоты, входящую в группу гормонов ауксинов, стимулирующих индукцию ризогенеза [12]. На контроле и концентрации цинка 30 мг/л длина корней была минимальная. В контрольной группе отмечались процессы каллусогенеза у основания побега, что в дальнейшем затруднит переход *ex vitro* (рис. 3, 4 d, e, f).

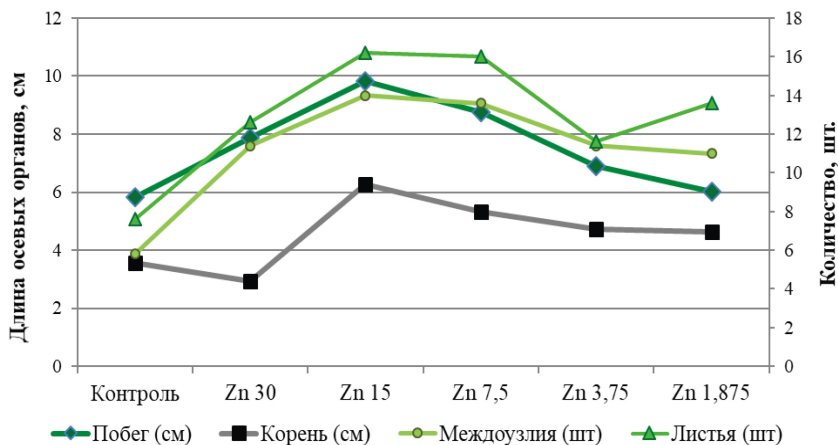


Рис. 3. Морфометрические показатели микропобегов *Robinia pseudoacacia* на питательных средах, дополненных ионами цинка

Вариант	Длина побега, см	Длина корней, см	Количество междоузлий, шт.	Количество листьев, шт.
Контроль	$5,84 \pm 0,80$ в	$3,55 \pm 1,09$ бв	$5,80 \pm 0,80$ б	$7,60 \pm 0,81$ в
Zn 30 мг/л	$7,88 \pm 0,37$ абв	$2,94 \pm 0,58$ в	$11,40 \pm 1,12$ а	$12,60 \pm 0,60$ аб
Zn 15 мг/л	$9,84 \pm 1,21$ а	$6,28 \pm 0,49$ а	$14,00 \pm 2,88$ а	$16,20 \pm 2,52$ а
Zn 7,5 мг/л	$8,75 \pm 0,54$ аб	$5,31 \pm 0,29$ аб	$13,60 \pm 1,21$ а	$16,00 \pm 1,22$ аб
Zn 3,75 мг/л	$6,90 \pm 1,03$ бв	$4,73 \pm 0,69$ абв	$11,40 \pm 2,23$ а	$11,60 \pm 1,96$ бв
Zn 1,875 мг/л	$6,02 \pm 0,31$ в	$4,64 \pm 0,99$ абв	$11,00 \pm 1,26$ а	$13,60 \pm 1,21$ аб



Рис. 4. Микропобеги *Robinia pseudoacacia* на экспериментальных питательных средах: а – Cu 3,75 мг/л, б – Cu 15 мг/л, с – Cu 60 мг/л, д – Zn 15 мг/л, е – Zn 30 мг/л, ф – контроль

Активное наращивание вегетативной массы происходило на средах с добавлением цинка. Максимальные значения по количеству междоузлий, листьев и количеству новых побегов отмечалось при концентрации Zn

15 мг/л (рис. 3, 4). По отношению к контрольной группе на всех экспериментальных вариантах с цинком данные параметры были улучшены, однако при максимальной концентрации ионов цинка в 30 мг/л верхушки растений-регенерантов были подвержены хлорозу. Этот процесс характерен при снижении уровня пигментов хлорофилла, приводящих к хлорозу молодых листьев, при повышении уровня Zn и проявлению его токсичности, способствующей быстрому старению и сокращению биомассы растений [18].

Сравнительная характеристика морфометрических показателей микропобегов *R. pseudoacacia* на экспериментальных средах, дополненных ионами меди, и контрольной группой указывает на угнетающее воздействие меди, причем ингибирование усиливается при увеличении концентрации. Схожие результаты были получены при изучении влияния меди на прорастание и рост *Cyperus esculentus* L. [22]. Максимальные значения для *R. pseudoacacia* по всем морфометрическим показателям были отмечены на контроле (рис. 5). При низких значениях Cu в диапазоне от 3,75 до 15 мг/л ростовые показатели снижались по мере возрастания концентрации, но при этом находились в пределах допустимых значений по отношению к контрольной группе. При этом токсическое влияние ионов меди проявлялось в наличии хлороза молодых верхушечных листьев и утолщении формировавшихся корней на фоне общего снижения количества укорененных эксплантов (рис. 4 а, b).

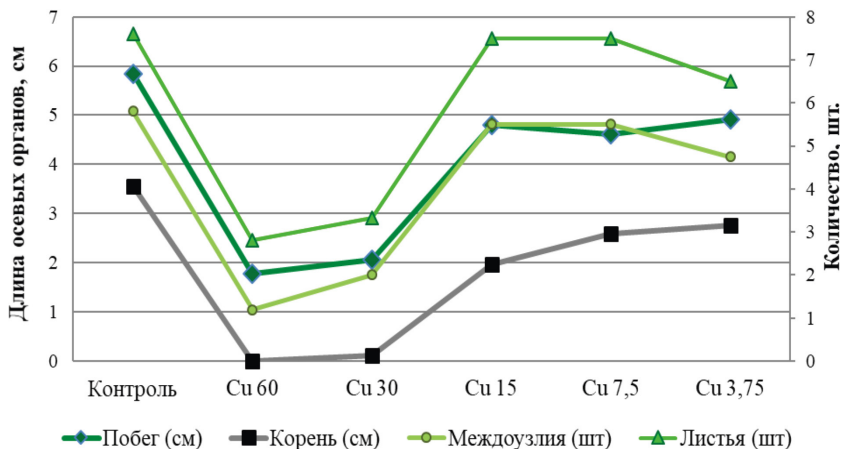


Рис. 5. Морфометрические показатели микропобегов *Robinia pseudoacacia* на питательных средах, дополненных ионами меди

Вариант	Длина побега, см	Длина корней, см	Количество междоузлий, шт.	Количество листьев, шт.
Контроль	$5,84 \pm 0,80$ а	$3,55 \pm 1,09$ а	$5,80 \pm 0,80$ а	$7,60 \pm 0,81$ а
Cu 60 мг/л	$1,77 \pm 0,24$ б	$0,00 \pm 0,00$ в	$1,20 \pm 0,20$ б	$2,80 \pm 0,37$ б
Cu 30 мг/л	$2,06 \pm 0,12$ б	$0,12 \pm 0,12$ бв	$2,00 \pm 0,12$ б	$3,33 \pm 0,67$ б
Cu 15 мг/л	$4,80 \pm 0,51$ а	$1,97 \pm 1,01$ абв	$5,50 \pm 0,65$ а	$7,50 \pm 0,50$ а
Cu 7,5 мг/л	$4,62 \pm 0,67$ а	$2,60 \pm 0,75$ абв	$5,50 \pm 0,50$ а	$7,50 \pm 0,50$ а
Cu 3,75 мг/л	$4,91 \pm 0,57$ а	$2,76 \pm 1,28$ аб	$4,75 \pm 0,85$ а	$6,50 \pm 0,87$ а

Концентрации ионов меди 30 и 60 мг/л являлись сублетальными для микропобегов *R. pseudoacacia*. Все ростовые показатели были снижены в 3–5 раз по отношению к контролю. Прирост побега и формирование новых листовых пластин практически отсутствовали и оставались на уровне первичного экспланта, субкультивируемого на питательную среду с высокими концентрациями Cu. Наблюдалось полное отсутствие корней и наличие хлороза (рис. 5 с, ф). В исследованиях Wojaczuk K. высокие концентрации меди также подавляли развитие побегов и корней у отобранных клонов тополя [15]. Избыток меди вызывает угнетение роста, хлороз листьев, утолщение основного корня и подавление образования корневых волосков [17]. При сублетальных концентрациях меди происходила полная остановка развития микропобегов *R. pseudoacacia* и отсутствие процессов гемморизогенеза.

Заключение

В результате проведенных исследований определена морфогенная роль ионов цинка и меди в культуральной среде при микроклональном размножении *Robinia pseudoacacia*, перспективной для защитного лесоразведения в условиях засушливого климата. Для проростков и микропобегов *R. pseudoacacia* стимулирующее действие оказала концентрация сульфата цинка 15 мг/л в питательной среде Мурасиге и Скуга, что привело к максимальной длине побегов $9,84 \pm 1,21$ см и развитию корневой системы ($6,28 \pm 0,49$ см), формированию новых побегов и увеличению количества междоузлий и листьев. Ионы Zn в диапазоне концентраций от 1,875 до 15 мг/л в целом проявляли стимулирующий характер воздействия на процессы морфогенеза *R. pseudoacacia*. Однако более высокая концентрация цинка 30 мг/л оказывала отрицательное влияние на микропобеги, которое проявлялось в хлорозе верхушечных листьев и снижении ростовых показателей.

Добавление ионов меди в исследуемом диапазоне от 3,75 до 60 мг/л проявлялось в постепенном угнетении морфогенного потенциала, как проростков, так и культивируемых микропобегов *R. pseudoacacia*. Токсическое действие избыточного содержания меди проявлялось в хлорозе листовых пластин, снижении количества укорененных эксплантов, утолщении основного корня и подавлении образования корней второго порядка и корневых волосков. Высокие концентрации сульфата меди 30 и 60 мг/л являлись сублетальными для микропобегов *R. pseudoacacia*, происходила полная остановка процессов гемморизогенеза.

Полученные результаты показывают, что исследованные концентрации ионов цинка могут быть использованы как эффективные стимуляторы морфогенеза *R. pseudoacacia* в культуре *in vitro* для оптимизации технологии микроклонального размножения и реализации селекционных программ данного вида.

Информация о конфликте интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Информация о спонсорстве. Работа выполнена в рамках Государственного задания научно-исследовательской работы ФНЦ агроэкологии РАН No 122020100427-1 «Разработать научные основы сохранения и воспроизводства ценных генотипов древесных и кустарниковых растений в культуре *in vitro*».

Список литературы

1. Бабошко, О. И., & Танюкевич, В. В. (2015). *Продуктивность и мелиоративная роль лесных полос с участием Robinia pseudoacacia L. в степной зоне* (108 с.). Новочеркасск: Новочеркасская государственная мелиоративная академия.
2. Барсукова, Е. Н., Клыков, А. Г., Фисенко, П. В., Боровая, С. А., & Чайкина, Е. Л. (2020). Использование методов биотехнологии в селекции гречихи на Дальнем Востоке. *Вестник Дальневосточного отделения Российской академии наук*, 4, 58–66. <https://doi.org/10.37102/08697698.2020.212.4.010>. EDN: <https://elibrary.ru/WDMMAU>
3. Барсукова, Е. Н., Клыков, А. Г., & Чайкина, Е. Л. (2023). Селекционная оценка сортообразцов гречихи посевной (*Fagopyrum esculentum* Moench), полученных с использованием ионов меди и цинка. *Аграрная наука*, 9, 84–89. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2023-374-9-84-89>. EDN: <https://elibrary.ru/BDEVXM>

4. Боровая, С. А., Барсукова, Е. Н., & Клыков, А. Г. (2022). Влияние селективных сред с тяжёлыми металлами на рост и развитие *Fagopyrum esculentum* Moench in vitro. *Вестник КрасГАУ*, 7, 95–101. <https://doi.org/10.36718/1819-4036-2022-7-95-101>. EDN: <https://elibrary.ru/GSBMOF>
5. Боровая, С. А., Клыков, А. Г., & Барсукова, Е. Н. (2023). Влияние токсического действия цинка и минерального голодания на рост и развитие гречихи посевной в культуре in vitro. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*, 184(2), 9–18. <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2023-2-9-18>. EDN: <https://elibrary.ru/OXMCGJ>
6. Дроздова, И. В., Алексеева-Попова, Н. В., Беляева, А. И., & Калимова, И. Б. (2014). Влияние меди, никеля и кадмия на рост и некоторые физиологические параметры сеянцев *Pinus sylvestris* и *Picea abies* (Pinaceae). *Растительные ресурсы*, 50(4), 554–566. EDN: <https://elibrary.ru/STDJWN>
7. Ермошин, А. А., Орлова, М. В., Неугодникова, Е. А., Григорьева, Е. И., Тептина, А. Ю., & Киселёва, И. С. (2020). Рост клевера и бурачка in vitro в среде с высоким содержанием тяжёлых металлов. *Экобиотех*, 3(2), 253–260. <https://doi.org/10.31163/2618-964X-2020-3-2-253-260>. EDN: <https://elibrary.ru/QVFBTY>
8. Землянухина, О. А., Калаев, В. Н., Воронина, В. С., & Епринцев, А. Т. (2017). Биохимическая адаптация микроклонов *Weigela florida* «Variegata» Bunge A. DC. к соле- и медьиндуцированным стрессам. *Сибирский лесной журнал*, 6, 89–101. <https://doi.org/10.15372/SJFS20170607>. EDN: <https://elibrary.ru/YMADDU>
9. Минайчев, В. В., Сиголаева, Т. Е., Кузнецов, Д. А., & Иванищев, В. В. (2015). Влияние ионов цинка и никеля на формирование проростков *Pisum sativum* L. *Известия Тульского государственного университета. Естественные науки*, 3, 292–304. EDN: <https://elibrary.ru/UMEKSZ>
10. Седов, К. А., Литвинова, И. И., & Гладков, Е. А. (2012). Оценка фитотоксичности меди и получение стресс-устойчивых двудольных растений. *Известия МГТУ*, 2, 273–276. EDN: <https://elibrary.ru/PVDJRT>
11. Тимофеева, Н. А., Сигарева, Л. Е., Крылова, Е. Г., & Лапиров, А. Г. (2016). Влияние ионов меди и никеля на морфофизиологические показатели проростков прибрежно-водных растений. *Известия Российской академии наук. Серия биологическая*, 3, 295–302. <https://doi.org/10.7868/S0002332916030115>. EDN: <https://elibrary.ru/VYLTFT>
12. Титов, А. Ф., Казнина, Н. М., & Таланова, В. В. (2014). *Тяжёлые металлы и растения* (194 с.). Петрозаводск: Карельский научный центр РАН. EDN: <https://elibrary.ru/UJJSQV>

13. Ahmad, N., Alatar, A. A., Faisal, M., Khan, M. I., Fatima, N., Anis, M., et al. (2015). Effect of copper and zinc on the in vitro regeneration of *Rauvolfia serpentina*. *Biologia Plantarum*, 59(11), 11–17. <https://doi.org/10.1007/s10535-014-0479-5>
14. Ashagre, H., Almaw, D., & Feyisa, T. (2013). Effect of copper and zinc on seed germination, phytotoxicity, tolerance and seedling vigor of tomato (*Lycopersicon esculentum* L. cultivar Roma VF). *International Journal of Agricultural Science Research*, 2(11), 312–317.
15. Bojarczuk, K. (2004). Effect of toxic metals on the development of poplar (*Populus tremula* L. × *P. alba* L.) cultured in vitro. *Polish Journal of Environmental Studies*, 13(2), 115–120.
16. Dikkaya, E. T., & Ergun, N. (2014). Effects of cadmium and zinc interactions on growth parameters and activities of ascorbate peroxidase on maize (*Zea mays* L. MAT 97). *European Journal Experimental Biology*, 4(1), 288–295.
17. González, Á., Chumillas, V., & del Carmen Lobo, M. (2012). Effect of Zn, Cd and Cr on growth, water status and chlorophyll content of barley plants (*Hordeum vulgare* L.). *Agricultural Sciences*, 3(4), 572–581. <https://doi.org/10.4236/as.2012.34069>
18. Goyal, D., Yadav, A., Prasad, M., Singh, T. B., Shrivastav, P., Ali, A., Kumar, D. P., & Mishra, S. (2020). Effect of heavy metals on plant growth: an overview: Contaminants in agriculture (pp. 79–101). Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-41552-5_4. EDN: <https://elibrary.ru/GZRKCE>
19. Mangal, M., Agarwal, M., & Bhargava, D. (2013). Effect of cadmium and zinc on growth and biochemical parameters of selected vegetables. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2(1), 110–114.
20. Manivasagaperumal, R., Balamurugan, S., Thiagarajan, G., & Sekar, J. (2011). Effect of zinc on germination, seedling growth and biochemical content of cluster bean (*Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub). *Current Botany*, 2(5), 11–15.
21. Murashige, T., & Skoog, F. A. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473–497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
22. Vwioko, E. D., & Digwe, K. C. (2018). Comparing effects of copper and chromium treatments on growth of *Cyperus esculentus* L. in field and in vitro studies and further explanation by restriction fragment length polymorphism analysis. *East African Journal of Sciences*, 12(1), 41–50.
23. Zayed, Z. E., EL-Dawayati, M. M., Hussien, F. A., & Saber, T. Y. (2020). Enhanced in vitro multiplication and rooting of date palm cv. Yellow Maktoum by zinc and copper ions. *Plant Archives*, 20(1), 517–528.

References

1. Baboshko, O. I., & Tanyukevich, V. V. (2015). *Productivity and ameliorative role of forest belts with Robinia pseudoacacia L. in the steppe zone* (108 pp.). Novocherkassk: Novocherkassk State Amelioration Academy.
2. Barsukova, E. N., Klykov, A. G., Fisenko, P. V., Borovaya, S. A., & Chaikina, E. L. (2020). Application of biotechnology methods in buckwheat breeding in the Far East. *Bulletin of the Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences*, 4, 58–66. <https://doi.org/10.37102/08697698.2020.212.4.010>. EDN: <https://elibrary.ru/WDMMAU>
3. Barsukova, E. N., Klykov, A. G., & Chaikina, E. L. (2023). Breeding evaluation of buckwheat cultivars (*Fagopyrum esculentum* Moench) obtained using copper and zinc ions. *Agrarian Science*, 9, 84–89. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2023-374-9-84-89>. EDN: <https://elibrary.ru/BDEVXM>
4. Borovaya, S. A., Barsukova, E. N., & Klykov, A. G. (2022). Effect of selective media with heavy metals on the growth and development of *Fagopyrum esculentum* Moench in vitro. *Bulletin of KrasSAU*, 7, 95–101. <https://doi.org/10.36718/1819-4036-2022-7-95-101>. EDN: <https://elibrary.ru/GSBMOF>
5. Borovaya, S. A., Klykov, A. G., & Barsukova, E. N. (2023). Effect of zinc toxicity and mineral starvation on the growth and development of common buckwheat in in vitro culture. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*, 184(2), 9–18. <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2023-2-9-18>. EDN: <https://elibrary.ru/OXMCGJ>
6. Drozdova, I. V., Alekseeva-Popova, N. V., Belyaeva, A. I., & Kalimova, I. B. (2014). Effect of copper, nickel, and cadmium on the growth and some physiological parameters of *Pinus sylvestris* and *Picea abies* (Pinaceae) seedlings. *Plant Resources*, 50(4), 554–566. EDN: <https://elibrary.ru/STDJWN>
7. Ermoshin, A. A., Orlova, M. V., Neugodnikova, E. A., Grigorieva, E. I., Teptina, A. Yu., & Kiseleva, I. S. (2020). Growth of clover and bugloss in vitro in a medium with high content of heavy metals. *Ecobiotech*, 3(2), 253–260. <https://doi.org/10.31163/2618-964X-2020-3-2-253-260>. EDN: <https://elibrary.ru/QVFBTY>
8. Zemlyanukhina, O. A., Kalaev, V. N., Voronina, V. S., & Yepintsev, A. T. (2017). Biochemical adaptation of *Weigela florida* «Variegata» Bunge A. DC. microclones to salt and copper-induced stresses. *Siberian Journal of Forest Science*, 6, 89–101. <https://doi.org/10.15372/SJFS20170607>. EDN: <https://elibrary.ru/YMADDU>
9. Minaychev, V. V., Sigolaeva, T. E., Kuznetsov, D. A., & Ivanishchev, V. V. (2015). Effect of zinc and nickel ions on the formation of *Pisum sativum* L. seedlings. *Proceedings of Tula State University. Natural Sciences*, 3, 292–304. EDN: <https://elibrary.ru/UMEKSZ>

10. Sedov, K. A., Litvinova, I. I., & Gladkov, E. A. (2012). Assessment of copper phytotoxicity and production of stress-resistant dicotyledonous plants. *Proceedings of MSTU*, 2, 273–276. EDN: <https://elibrary.ru/PVDJRT>
11. Timofeeva, N. A., Sigareva, L. E., Krylova, E. G., & Lapirova, A. G. (2016). Effect of copper and nickel ions on morphophysiological parameters of littoral aquatic plant seedlings. *Proceedings of the Russian Academy of Sciences. Biological Series*, 3, 295–302. <https://doi.org/10.7868/S0002332916030115>. EDN: <https://elibrary.ru/VYLTFI>
12. Titov, A. F., Kaznina, N. M., & Talanova, V. V. (2014). *Heavy metals and plants* (194 pp.). Petrozavodsk: Karelian Research Centre of the RAS. EDN: <https://elibrary.ru/UAJSQV>
13. Ahmad, N., Alatar, A. A., Faisal, M., Khan, M. I., Fatima, N., Anis, M., et al. (2015). Effect of copper and zinc on the in vitro regeneration of *Rauvolfia serpentina*. *Biologia Plantarum*, 59(11), 11–17. <https://doi.org/10.1007/s10535-014-0479-5>
14. Ashagre, H., Almaw, D., & Feyisa, T. (2013). Effect of copper and zinc on seed germination, phytotoxicity, tolerance and seedling vigor of tomato (*Lycopersicon esculentum* L. cultivar Roma VF). *International Journal of Agricultural Science Research*, 2(11), 312–317.
15. Bojarczuk, K. (2004). Effect of toxic metals on the development of poplar (*Populus tremula* L. × *P. alba* L.) cultured in vitro. *Polish Journal of Environmental Studies*, 13(2), 115–120.
16. Dikkaya, E. T., & Ergun, N. (2014). Effects of cadmium and zinc interactions on growth parameters and activities of ascorbate peroxidase on maize (*Zea mays* L. MAT 97). *European Journal Experimental Biology*, 4(1), 288–295.
17. González, Á., Chumillas, V., & del Carmen Lobo, M. (2012). Effect of Zn, Cd and Cr on growth, water status and chlorophyll content of barley plants (*Hordeum vulgare* L.). *Agricultural Sciences*, 3(4), 572–581. <https://doi.org/10.4236/as.2012.34069>
18. Goyal, D., Yadav, A., Prasad, M., Singh, T. B., Shrivastav, P., Ali, A., Kumar, D. P., & Mishra, S. (2020). Effect of heavy metals on plant growth: an overview: Contaminants in agriculture (pp. 79–101). Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-41552-5_4. EDN: <https://elibrary.ru/GZRKCE>
19. Mangal, M., Agarwal, M., & Bhargava, D. (2013). Effect of cadmium and zinc on growth and biochemical parameters of selected vegetables. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2(1), 110–114.
20. Manivasagaperumal, R., Balamurugan, S., Thiagarajan, G., & Sekar, J. (2011). Effect of zinc on germination, seedling growth and biochemical content of cluster bean (*Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub). *Current Botany*, 2(5), 11–15.

21. Murashige, T., & Skoog, F. A. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473–497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
22. Vwioko, E. D., & Digwe, K. C. (2018). Comparing effects of copper and chromium treatments on growth of *Cyperus esculentus* L. in field and in vitro studies and further explanation by restriction fragment length polymorphism analysis. *East African Journal of Sciences*, 12(1), 41–50.
23. Zayed, Z. E., EL-Dawayati, M. M., Hussien, F. A., & Saber, T. Y. (2020). Enhanced in vitro multiplication and rooting of date palm cv. Yellow Maktoum by zinc and copper ions. *Plant Archives*, 20(1), 517–528.

ВКЛАД АВТОРОВ

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку статьи для публикации.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

The authors contributed equally to this article.

ДАННЫЕ ОБ АВТОРАХ

Жолобова Ольга Олеговна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник – заведующий лабораторией биотехнологий
ФГБНУ «Федеральный научный центр агроэкологии, комплексных мелиораций и защитного лесоразведения Российской академии наук»
пр. Университетский, 97, г. Волгоград, 400062, Российская Федерация
zholobova-o@vfanc.ru

Терещенко Татьяна Васильевна, младший научный сотрудник лаборатории биотехнологий
ФГБНУ «Федеральный научный центр агроэкологии, комплексных мелиораций и защитного лесоразведения Российской академии наук»
пр. Университетский, 97, г. Волгоград, 400062, Российская Федерация
tereschenko@vfanc.ru

DATA ABOUT THE AUTHORS

Olga O. Zholobova, Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher – Head of the Biotechnology Laboratory

Federal State Budgetary Institution “Federal Scientific Center of Agroecology, Complex Melioration and Protective Afforestation of the Russian Academy of Sciences”

*97, Universitetskiy Prospekt, Volgograd, 400062, Russian Federation
zholobova-o@yfanc.ru*

SPIN-code: 7730-9448

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1594-4181>

ResearcherID: AAO-3716-2021

Scopus Author ID: 58168717100

Tatiana V. Tereschenko, Junior Researcher of the Biotechnology Laboratory

Federal State Budgetary Institution “Federal Scientific Center of Agroecology, Complex Melioration and Protective Afforestation of the Russian Academy of Sciences”

*97, Universitetskiy Prospekt, Volgograd, 400062, Russian Federation
tereschenko@yfanc.ru*

SPIN-code: 5590-9182

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9116-6062>

ResearcherID: AAO-4937-2021

Поступила 05.11.2024

После рецензирования 14.12.2024

Принята 20.12.2024

Received 05.11.2024

Revised 14.12.2024

Accepted 20.12.2024