Physiological properties of extracts from plants subjected to cold stress

Furs O.V., Zakharchenko N.S., Dyachenko O.V., Buryanov Ya.I., Shchevchuk T.V.

Pushchino Branch, Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russia

E-mail: znata_2008@mail.ru

Key message. The biological activity of extracts from aloe and kalanchoe plants subjected to cold stress increases compared to extracts not subjected to cold stress.

Keywords: biological activity, extracts, low positive temperature, aloe, kalanchoe

The development of effective plant regeneration methods is an important area of modern biotechnology. Among the promising objects for biotechnology are kalanchoe (*Kalanchoe pinnata*) and aloe (*Aloe arborescens*) plants. Kalanchoe and aloe drugs with a wide range of biological activity are appreciated by modern medicine. Complex compounds contained in water extracts kalanchoe and aloe has a stimulating effect on the regeneration of animal tissue.

The aim of our work was to study the effect of kalanchoe and aloe extracts on the regeneration and calli-formation of kalanchoe plants, rapeseed (*Brassica napus*), tomatoes (*Lucopersicon esculentum* Mill.), ice plant (*Mesembryanthemum crystallinum*). The extract preparation included the following procedures: 1) leaves were washed with water and dried; 2) the leaves were incubated in the dark for 7 days at 4°C and then crushed in a laboratory blender; 3) the obtained mass was centrifuged at 4°C, precipitate was removed; 4) the supernatant was heated in a water bath for 2 h at 70°C to inactivate endogenous peptidases; (5) finally, the extract was sterilized using Millipore TYPE HAWP membrane filters.

The resulting extract was added to the MS nutrient medium in the amount of 1 ml per 100 ml of medium. Hormones were used for plant regeneration: for rapeseed 6-benzylaminopurin (BAP) 4 mg/L, naphthaleneacetic acid (NAA) – 2 mg/L, abscisic acid (ABA) – 3 mg/l; for kalanchoe - BAP 1 mg/L, NAA – 0.1 mg/L; for tomato – 1 mg/l kinetin, 1 mg/l indole-3-acetic acid (IAA); for the calli formation of ice plant – 0.2 mg/l of kinetin, 1 mg/l 2.4 dichlorophenoxyacetic acid (2.4D).

It was shown that the regeneration of kalanchoe on the medium with the addition of the described extracts was increased by 8-10 times compared to control 1 (treated without extract) and 3-4 times compared to control 2 (treated with extract without cold treatment); rapeseed regeneration increased 4-5 times and 2-3 times respectively; induced rhizogenesis and calli-formation of tomatoes 5-6 and 2-3 times; rhizogenesis and root formation of ice plant 3 and 2 times. These data show the stimulating effect of aloe and kalanchoe extracts on regeneration and induction of plant rhizogenesis.

The study was supported by the grants RFFI № 19.08.00375, № 18-08-00752, № 19-08-00299

Физиологические свойства экстрактов из растений, подвергнутых холодовому стрессу

Фурс О.В., Захарченко Н.С., Дьяченко О.В., Бурьянов Я.И., Шевчук Т.В.

Филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Пушкино, Россия

Аннотация. Биологическая активность экстрактов из растений алоэ и каланхоэ, подвергнутых холодовому стрессу, увеличивается по сравнению с экстрактами не подвергнутых холодовому стрессу.

Ключевые слова: биологическая активность, экстракты, низкая положительная температура, алоэ, каланхоэ

Разработка эффективных методов регенерации растений является актуальной областью современной биотехнологии. Среди перспективных для биотехнологии объектов привлекают внимание растения каланхоэ (*Kalanchoe pinnata*) и алоэ (*Aloe arborescens*). Препараты каланхоэ и алоэ с широким спектром биологической активности находят применение в медицине. Комплекс соединений, содержащихся в водных экстрактах (соке) каланхоэ и алоэ оказывает стимулирующее действие на регенерацию тканей животных.

Целью нашей работы было исследование влияния экстрактов каланхоэ и алоэ на регенерацию и каллусообразование растений каланхоэ, рапса (*Brassica napus*), томатов (*Lucopersicon esculentum* Mill.), хрустальной травки (*Mesembryanthemum crystallinum*). Метод выделения экстракта включает следующие этапы: 1) срезанные листья каланхоэ или алоэ промывали водой и подсушивали; 2) листья выдерживали 7 суток в темноте при 4°C и затем размельчали в лабораторном блендере; 3) полученную массу центрифугировали при 4°C, осадок удаляли; 4) супернатант прогревали в термостате при 70°C 2 часа; 5) экстракт стерилизовали с помощью мембранных фильтров Millipore TYPE HAWP. Полученный экстракт добавляли в питательную среду МС в количестве 1 мл на 100 мл среды. Для регенерации растений использовали гормоны: для рапса – 6-бензиламинопурин (БАП) - 4 мг/л, нафтилуксусная кислота (НУК) – 2 мг/л, абсцизовая кислота (АБК) – 3 мг/л; для каланхоэ - БАП 1 мг/л, НУК – 0,1 мг/л; для томата – 1 мг/л кинетин, 1 мг/л индолилуксусная кислота (ИУК); для каллусообразования хрустальной травки – 0.2 мг/л кинетина, 1 мг/л дихлорфеноксиуксусной кислоты (2.4Д).

В результате проведенных исследований было показано, что регенерация каланхоэ на среде с добавлением описанных экстрактов увеличивалась в 8-10 раз по сравнению с контролем 1 (среда без экстракта) и в 3-4 раза по сравнению с контролем 2 (среда с экстрактом без холодовой обработки); регенерация рапса увеличивалась в 4-5 раз и в 2-3 раза соответственно; индукция ризогенеза и каллусообразование томатов в 5-6 и 2-3 раза; ризогенез и корнеобразование хрустальной травки в 3 и 2 раза. Эти данные свидетельствуют о стимулирующем эффекте экстрактов алоэ и каланхоэ на регенерацию и индукцию ризогенеза растений.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ № 19.08.00375, № 18-08-00752, № 19-08-00299.