Крахмалева И.Л., Ахметова Л.Р., Молканова О.И.
Влияние источника углеродного питания на морфогенетический потенциал
представителей рода *Hydrangea* L. в культуре *in vitro*

ФГБУН Главный ботанический сад
им. Н.В. Цицина РАН
(Россия, Москва)

doi: 10.18411/lj-05-2019-51

idsp: ljjournal-05-2019-51

Аннотация

Изучено влияние типа углеводов на регенерацию микропобегов представителей рода *Hydrangea* L. на этапе собственно микроразмножения. Определены факторы оказывающие наибольшее влияние на коэффициент размножения, число образовавшихся микропобегов и их высоту. Для некоторых исследуемых сортов показано положительное влияние добавления в питательную среду глюкозы.

Ключевые слова: *Hydrangea* L., морфогенез *in vitro*, клональное микроразмножение, углеродное питание

Abstract

The influence of the carbohydrate type on the microshoots regeneration of the genus *Hydrangea* L. representatives of the propagation stage was developed. The most influencing factors on the multiplication rate, the number of formed microshoots and their height was determined. The positive effect of glucose addition in to the nutrient medium was reveled.

Keywords: *Hydrangea* L., morphogenesis *in vitro*, clonal micropropagation, carbohyrete nutrition

Род Гортензия (*Hydrangea* L.) семейства Гортензиевые (Hydrangeaceae Dumort.) относится к порядку Кизиловцветные (*Cornales* Dumort.), включает более 80 видов [8]. Гортензия по праву считается одной из наикрасивейших декоративных культур, которая ценится за свои пышные, долго и обильно цветущие полусферические соцветия. В настоящее время спрос на декоративные и редкие сорта гортензии растет, однако существуют некоторые трудности в получении большого количества посадочного материала малораспространенных сортов в ограниченные сроки. Поэтому в последнее время для размножения гортензии используют современные биотехнологические методы [1, 8].

При культивировании тканей растений *in vitro* чаще всего в качестве источника углерода используют сахарозу в концентрации 20 – 40 г/л [5, 7]. Муратовой С.А. получены положительные результаты по замене сахарозы на глюкозу при культивировании клематисов, сирени, малины и лимонника [7].

Цель данной работы – выявление регенерационных способностей представителей рода *Hydrangea* L. на этапе собственно микроразмножения при замене сахарозы на глюкозу.

Объекты и методы исследования

Исследования проводили в 2019 году в лаборатории биотехнологии растений ФГБУН ГБС им. Н. В. Цицина РАН. Объектами исследования были перспективные сорта *H. paniculata* Siebold Candlelight, Wim's Red и *H. macrophylla* Thunb. сорт Peppermint.

Методика биотехнологических исследований с культурами изолированных тканей и органов растений основывалась на общепринятых классических приемах [2].

На этапе собственно микроразмножения использовали модифицированную питательную среду с минеральной основой МС (Murashige and Skoog, 1962) [9] и добавлением разных углеводов (сахароза 30 г/л, глюкоза 20 г/л) и цитокинина 6-БАП (6-benzylaminopurine) в концентрации 0,5 мг/л. В качестве контроля использовали

питательную среду МС с сахарозой 30 г/л без добавления регуляторов роста. Во всех вариантах исследования в качестве эксплантов использовали верхушки микропобегов.

Исследования проводили в трех повторностях, 10 эксплантов в каждом варианте. Регенеранты культивировали при освещении 2000 – 3000 лк и фотопериоде 16/8 часов, при температуре 23 – 25°C.

Через 5 недель измеряли высоту побегов, подсчитывали количество микропобегов и междоузлий, и на основе полученных данных рассчитывали коэффициент размножения. Для обработки данных использовали программу Microsoft Office Excel 2010. С помощью двухфакторного дисперсионного анализа [3] выявили доли влияния фактора: сорт (А), тип углеродного питания (В), взаимодействия этих двух факторов и случайного фактора на коэффициент размножения и число образовавшихся микропобегов.

Результаты и обсуждение

Главную роль при разработке и оптимизации методик клонального микроразмножения играют видовые и сортовые характеристики растений, выбранный эксплант, состав питательной среды и условия культивирования [4, 5, 6]. При изучении влияния сортовых особенностей и типа углеродного питания установлено, что каждый фактор влиял на исследуемые объекты в разной степени. Наибольшее влияние на коэффициент размножения и число образовавшихся микропобегов оказывал тип углеродного питания (45 и 58%), по сравнению с сортовыми особенностями (28 и 21%) и взаимодействием этих двух факторов (26 и 19%). Влияние случайного фактора было незначительным (1 и 2%) (рис. 1, 2).

Рис. 1 Доля влияния факторов на коэффициент размножения представителей рода *Hydrangea*

Рис. 2 Доля влияния факторов на число образовавшихся микропобегов представителей рода *Hydrangea*

Наибольшим морфогенетическим потенциалом по числу образовавшихся микропобегов характеризовался сорт Candlelight (2,28 шт.), несколько меньшим – Peppermint (1,91 шт.), наименьшим числом образовавшихся микропобегов характеризовался сорт Wim's Red (1,40 шт.) (рис. 3).

Сорта гортензии метельчатой характеризовались адвентивным побегообразованием из основания микропобегов, а у некоторых эксплантов сорта Candlelight наблюдали образование конгломератов (12 – 15 шт.) микропобегов. Отличительной особенностью сорта Peppermint гортензии крупнолистной является образование микропобегов за счет активации пазушных почек.

Рис. 3 Влияние сортовых особенностей на число образовавшихся микропобегов представителей рода *Hydrangea* ($HCP_{05} 0,24$)

У сорта Peppermint наибольшую высоту микропобегов наблюдали при культивировании на питательной среде без добавления регуляторов роста ($0,94 \pm 0,04$

см). У сортов гортензии метельчатой на данной среде наблюдали наименьшую высоту микропобегов ($0,42 \pm 0,02$ и $0,39 \pm 0,02$).

По коэффициенту размножения сорта гортензии метельчатой Candlelight и крупнолистной Peppermint характеризовались наибольшим значением, но существенных различий между ними не было выявлено (4,58 и 4,80 соответственно). Сорт Wim's Red отличался более низким коэффициентом размножения (2,61) (рис. 4, 5).

Рис. 4 Влияние сортовых особенностей на коэффициент размножения представителей рода *Hydrangea* ($HCP_{05} 0,29$)

Рис. 5 Морфогенетический потенциал разных сортов *H. paniculata* на питательной среде МС, 20 г/л глюкоза, 0,5 мг/л 6-БАП: А - Candlelight, Б - Wim's Red (масштаб 1 см)

Для разных сортов гортензии был установлен оптимальный тип углеводного питания для лучшей реализации морфогенетического потенциала (рис. 6).

Рис. 6 Влияние сортовых особенностей и типа углеводного питания на коэффициент размножения представителей рода *Hydrangea* ($HCP_{05} 0,70$)

Положительный эффект при замене сахарозы на глюкозу наблюдали у гортензии крупнолистной сорта Peppermint (5,72). Наибольший коэффициент размножения гортензии метельчатой сорта Candlelight (6,63) был получен на питательной среде с сахарозой. У сорта Wim's Red на всех вариантах питательных сред коэффициент размножения не отличался (3,12 и 3,27 соответственно). Но на питательных средах, содержащих глюкозу, наблюдали увеличение высоты микропобегов ($0,76 \pm 0,05$ против $0,65 \pm 0,05$) (таблица 1), что положительно влияет на дальнейшее укоренение.

Выводы

При исследовании морфогенеза представителей рода *Hydrangea* на этапе собственно микроразмножения была выявлена эффективность замены дисахарида – сахарозы на моносахарид – глюкозу. Наибольший коэффициент размножения (5,72) на питательной среде МС, содержащей 20 г/л глюкозы, был получен у гортензии крупнолистной сорта Peppermint. Положительный эффект влияния глюкозы на гортензию метельчатую сорта Wim's Red был в увеличении высоты микропобегов. У сорта Candlelight не выявлено эффективности замены источника углерода – наибольший коэффициент размножения (6,63) наблюдали на среде содержащей 30 г/л сахарозы.

Работа выполнена в рамках ГЗ ГБС РАН (№118021490111-5)

***

1. Ахметова Л.Р., Егорова Д.А. Особенности клонального микроразмножения представителей *Hydrangea paniculata* Siebold // Научный альманах. – 2018. – № 2 – 2 (40). – С. 153 – 156.
2. Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений in vitro и биотехнология на их основе. – М.: ФБК-ПРЕСС, 1999. – 160 с.
3. Лакин Г. Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1980. – 352 с.

4. Малаева Е.В., Коновалова Е.В., Молканова О.И. Использование биотехнологических методов для сохранения и поддержания коллекции актинидии в культуре *in vitro* // Плодоводство и ягодоводство России. – 2009. – Т. 21, № 1. – С. 212 – 218.
  5. Молканова О.И., Королева О.В., Стахеева Т.С., Крахмалева И.Л., Мелещук Е.А. Совершенствование технологии клонального микроразмножения ценных плодовых и ягодных культур для производственных условий // Достижения науки и техники АПК. 2018. – Т. 32, № 9. – С. 66 – 69.
  6. Муратова С.А., Соловых Н.В., Терехов В.И. Индукция морфогенеза из изолированных соматических тканей растений. – Мичуринск: Изд-во Мичуринского госагроуниверситета. 2011. – 107 с.
  7. Муратова С.А., Шорников Д.Г., Янковский М.Б. Размножение садовых культур *in vitro* (методические рекомендации). – Мичуринск-научоград РФ, 2008. – 69 с.
  8. Azza M.S. Arafa, A.A. Nower, Samia S. Helme and H.A. Abd-Elaty. 2017. Large Scales of Hydrangea macrophylla Using Tissue Culture Technique // Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci. 6(5): 776 – 778.
  9. Murashige T., Skoog F. Arevised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiol. Plant. – 1962. – Vol. 15. No. 43. – P. 473 – 497.
-