

## КЛОНАЛЬНОЕ МИКРОРАЗМНОЖЕНИЕ СОРТОВ *HEMEROCALLIS* L. И *HOSTA* L. ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ЭКСПЛАНТОВ ТКАНЕЙ И ОРГАНОВ ЦВЕТКА

А.Ю. НАБИЕВА, *кандидат биологических наук*

Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, Новосибирск, Россия

### **Введение**

Гибридные сорта родов *Hosta* L. и *Hemerocallis* L. – высокодекоративные, устойчивые к заболеваниям растения, хорошо приспособленные к условиям умеренного резко континентального климата Западной Сибири. В практике ботанических садов преобладают традиционные методы их размножения, при которых деление куста возможно только спустя 2-3 года. Вследствие этого в большинстве ботанических коллекций возникает дефицит новых высокодекоративных сортов и весьма актуальной становится разработка методик размножения ценных генотипов родов *Hemerocallis* и *Hosta* в культуре *in vitro*.

При использовании пазушных почек, находящихся под землей, в качестве эксплантов при размножении хост многие исследователи неизбежно сталкивались с проблемой бактериального и грибного заражения [9, 10]. Кроме того, число образовавшихся растений-регенерантов было невелико [11]. В большинстве исследований по введению лилейников в стерильную культуру развитие растений происходило посредством образования каллуса на разных типах эксплантов [6, 7]. Авторами приведены данные о сомаклональной вариабельности среди регенерантов, полученных в культуре верхушек побегов хосты, где число измененных форм достигало 43,8% [10]. Большинство таких сомаклонов показывало различия по площади листьев, содержанию хлорофилла и длине черешков по сравнению с исходными растениями. Поскольку у регенерантов, полученных через каллусогенез, отмечается появление сомаклональной изменчивости [1, 5], изучение морфогенетических реакций при культивировании эксплантов является весьма актуальным.

Целью данной работы было апробирование методики введения в стерильную культуру тканей и органов цветка новых декоративных сортов *Hemerocallis* и *Hosta*, разработанной нами ранее на различных представителях рода *Lilium* [2], их размножение путем прямого органогенеза в условиях *in vitro* и выявление изменчивости в культуре ткани исследуемых растений.

### **Объекты и методы исследования**

Объектами служили три сорта хосты – Krossa Regal, Christmas Tree, Streaptise и два сорта лилейника – Sabina Bayer и Bela Lugosi, растущих на интродукционном участке Центрального сибирского ботанического сада. В качестве эксплантов, имеющих высокую регенерационную способность, были взяты соматические ткани и органы цветка из еще нераскрытий бутонов высотой 15-25 мм, а именно: поперечные срезы оси соцветия, либо цветоножки – толщиной 1,5-2 мм; фрагменты цветоложа такой же толщины; тычиночные нити с пыльниками, имевшие в основании небольшой сегмент цветоложа и завязи.

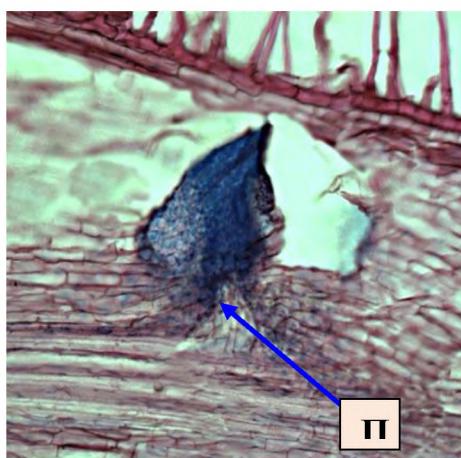
Для инициации развития изолированные экспланты, выделенные из цветков, помещали на питательную среду MS<sub>m</sub> – модифицированную нами MS, к которой добавляли 40 г/л сахарозы, 7 г/л агара и регуляторы роста: ауксин 2,4-Д и цитокинин БАП. В контроле использовали среды этого же состава без регуляторов роста.

Первоначально объекты помещали в темноту в термостат при 26-28°C. Через 1,5 месяца экспланты с выраженной морфогенетической реакцией переносили для дифференциации на среду MS, в которую был добавлено 0,2 мг/л БАП, в дальнейшем их культивировали под люминесцентными лампами с фотопериодом 16 час при 20-25°C.

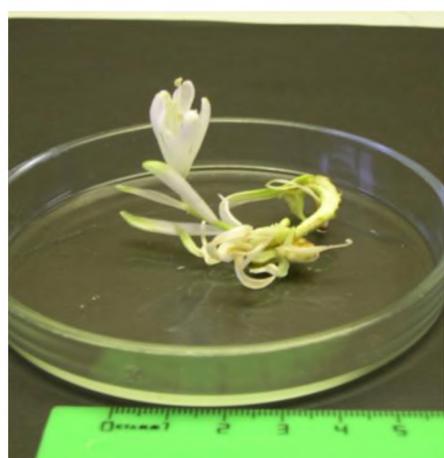
Для лучшего укоренения микропобеги переносили на безгормональную среду MS с уменьшенным в два раза содержанием макро- и микросолей ( $\frac{1}{2}$  MS). Количество сахарозы в данной среде не превышало 20 г/л, а количество агара составляло 4-5 г/л. В дальнейшем растения *in vitro* помещали при + 7°C в световой термостат фирмы Rumed (Германия) для прохождения регенерантами в течение 6-8 недель периода покоя и их лучшей предадаптации к условиям *in vivo*.

### Результаты и обсуждение

Отличительной особенностью хост по сравнению с лилейниками, по мнению некоторых исследователей, является их более высокая регенерационная активность, обусловленная заложением нескольких (до трех) коллатеральных почек в пазухе листа экспланта в пределах одного аксилярного комплекса [4]. Нами отмечено, что побегообразование у хосты *in vitro* происходило на возникающих на фрагментах цветоложа адвентивных корнях, закладывающихся из субэпидермальных тканей стебля (рис. 1).



**Рис. 1. Ранние этапы развития почки (П) у основания завязи хосты сорта *Krossa Regal* в культуре *in vitro***



**Рис. 2. Образование цветоносного побега у основания завязи хосты сорта *Streaptise* в культуре *in vitro***

Если экспланты выделяли из раскрывшихся бутонов, развитие регенерантов проходило, в основном, по пути флорального морфогенеза (рис. 2). Образование каллуса было отмечено в тех случаях, если экспланты были взяты из бутонов на стадии роспускания, имели значительную раневую поверхность, а также, если содержание ауксина 2,4-Д в среде превышало 1,5 мг/л.

У *Hemerocallis* в культуре *in vitro* образование адвентивных почек было отмечено в основании цветоложа, а также на поперечных срезах осей соцветий. У остальных типов эксплантов, выделенных из бутонов *Hemerocallis* и *Hosta*, процесса морфогенеза не наблюдали.

В результате экспериментов было установлено, что необходимым индуктором органогенеза как хост, так и лилейников в культуре *in vitro* было включение в состав инициирующей среды как 0,4-0,8 мг/л БАП, так и 0,5-1,5 мг/л 2,4-Д. Известно, что многими исследователями 2,4-Д используется, в основном, как индуктор каллусогенеза или эмбриоидогенеза, особенно у однодольных растений [3, 8].

Можно заключить, что процесса каллусообразования у хосты можно избежать, если вносить на начальном этапе в среду MS не более 1,5 мг/л 2,4-Д (табл.). Однако, уже на стадии дифференциации нами отмечены изменения в морфологии листьев у полученных регенерантов (рис. 3).

## Таблица

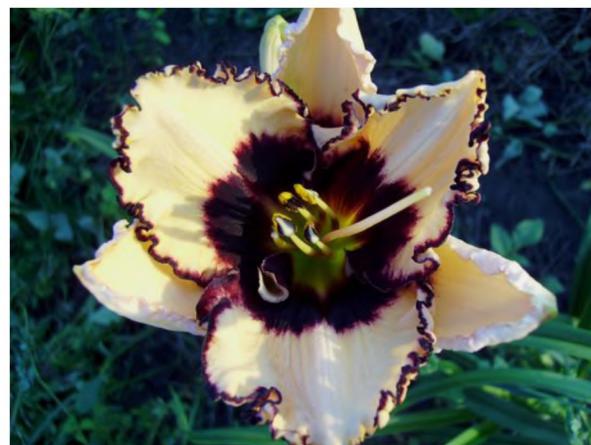
**Влияние регулятора роста 2,4-Д (мг/л) на регенерационные процессы в культуре тканей цветоложа, выделенного из бутонов сортов *Hosta* и *Hemerocallis***

Объект	Концентрация 2,4-Д		
	0	0,5	1,5
	Кол-во микропобегов, шт./экспланта		
<i>Hosta</i> :			
Christmas Tree	0	4,5	3,2 *
Krossa Regal	0	3,0	2,0 *
Streaptise	0,2	2,5	1,5 *
<i>Hemerocallis</i> :			
Sabina Bayer	0	5,5*	4,0*
Bela Lugosi	0	7,5	6,4

Примечание: \* - непрямой органогенез (каллусогенез)



**Рис. 3. Измененная морфология листа у сомаклонов *Hosta*, сорт *Christmas Tree***



**Рис. 4. Цветение регенеранта *Hemerocallis*, сорт *Sabina Bayer***

С другой стороны, увеличение числа регенерантов *Hemerocallis* вплоть до 6-7 пассажа происходило как за счет прямого (сорт *Bela Lugosi*), так и непрямого органогенеза (сорт *Sabina Bayer*) путем образования новых адвентивных почек. Данная методика размножения позволила получить от одного бутона 35-70 регенерантов, в зависимости от сорта. Спустя год культивирования *in vitro* все регенеранты *Hosta* и *Hemerocallis* имели хорошо развитую корневую систему и были высажены в условия закрытого грунта.

После 2 лет выращивания в почвенных условиях у сорта *Sabina Bayer* не отмечено фенотипических и генотипических изменений (рис. 4).

### Выводы

У всех изученных представителей родов *Hosta* и *Hemerocallis* были получены жизнеспособные регенеранты при использовании способа культивирования изолированных тканей и органов цветков. Выявлено, что путь морфогенеза в культуре *in vitro* у эксплантов, выделенных из нераскрытий бутонов сортов *Hosta* и *Hemerocallis*, определяется концентрацией и соотношением регуляторов роста в инициальной среде, а также зависит от генотипа. Несмотря на то, что растения *Hemerocallis* сорт *Sabina Bayer* были получены путем непрямого органогенеза, среди регенерантов не выявлено сомаклональной изменчивости, в то время как у регенерантов *Hosta* сорта *Christmas Tree*

отмечены изменения в морфологии листьев, что, возможно, связано с нестабильностью данного сорта.

### **Список литературы**

1. Кунах В.А. Генетическая изменчивость соматических клеток растений. 3. Каллусообразование *in vitro* // Биополимеры и клетка. – 1997. – Т. 13, № 5. – С. 362-366.
2. Набиева А.Ю., Дорогина О.В., Красников А.А. Размножение и сохранение в культуре *in vitro* двух редких видов лилий – *Lilium distichum* Nakai и *L. cernuum* Kom. // Раст. ресурсы. – 2008. – Т. 44, Вып. 2 – С. 23-29.
3. Швецов С.Г., Гамбург К.З. Поглощение и метаболизм 2,4-Д в суспензионной культуре клеток кукурузы и сои // Физиология растений. – 1980. – Т. 27, № 4. – С. 746-755.
4. Чурикова О.А. Изучение закономерностей функционирования верхушечной меристемы побега и особенностей морфогенетических процессов в культурах *in vitro* растений разных таксономических групп // Вестн. Моск. ун-та. Сер. Биология. – 2005. – № 3. – С. 52-64.
5. Nuclear fragmentation followed by mitosis as a mechanism for wide number variation in tissue culture; its implications for plant regeneration / D'Amato F., Bennici A., Cionini P.G., Barocelli S., Lupi M.C. // Plant Cell Culture: Results and Perspectives. – Amsterdam: Elsevier, 1980. – P. 62-72.
6. Heuser C.W., Apps D.A. *In vitro* plantlet formation from flower petal explants of *Hemerocallis* cv. Chipper Cherry // Can. J. Bot. – 1976. – V. 54. – P. 616-618.
7. Hussey G. Totipotency in tissue explants and callus of some members of the Liliaceae, Iridaceae and Amaryllidaceae // J. Exp. Bot. – 1975. – 26. – P. 253-262.
8. A method for inflorescence proliferation / Lin C.-S., Chen C.-T, Lin C.-C., Chang W.-C. // Plant Cell Rep. – 2003. – V. 21. – P. 838-843.
9. Lubomski M. Shoot multiplication and rooting of *Hosta sieboldiana* cv. Gold Standard using cultured shoot tips // Acta Hort. – 1989. – N 251. – P. 223-228.
10. Paek K.Y., Ma S.H. *In vitro* propagation of hosta using cultured shoot tips and somaclonal variability of regenerants // Acta Hort. – 1996. – N 440. – P. 576-581.
11. Papachatzi P.M., Hammer P.A., Hasegawa P.M. *In vitro* propagation of *Hosta decorata* "Thomas Hogg" using cultured shoot tips // J. Am. Soc. Hort. Sci. – 1981. – V. 106, N 2. – P. 232-236.

### **КЛОНАЛЬНОЕ МИКРОРАЗМНОЖЕНИЕ РЕДКОГО СИБИРСКОГО ВИДА *GUELDENSTAEDTIA MONOPHYLLA* FISCH.**

Г.Г. МАЙСТРЕНКО<sup>2</sup>, кандидат биологических наук;  
Т.И. НОВИКОВА<sup>1</sup>, доктор биологических наук;  
И.Ю. СЕЛЮТИНА<sup>1</sup>, кандидат биологических наук;  
К.К. СИДОРОВА<sup>2</sup>, доктор биологических наук

<sup>1</sup>Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, Новосибирск, Россия,

<sup>2</sup>Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

### **Введение**

Гюльденштедтия однолистная (*Gueldenstaedtia monophylla* Fisch.) семейства *Fabaceae* – реликт третичного периода, эндем центральной Азии. Вид имеет дизъюнктивный ареал и встречается в горностепном поясе центрального, реже юго-восточного Алтая, а также в Туве и Монголии [8, 16] (рис. 1). Обычно он представлен небольшим числом популяций, строго приуроченным к засушливым каменистым