

Международный журнал прикладных наук и технологий "Integral"

Научная статья

Original article

УДК: [631.526.321:582.703]:57.017.35.085.2

DOI 10.24412/2658-3569-2021-10077



**ОСОБЕННОСТИ РЕГЕНЕРАЦИИ РАЗНЫХ СОРТОВ HEUCHERA И  
×HEUCHERELLA В КУЛЬТУРЕ IN VITRO**

**IN VITRO REGENERATION FEATURES OF DIFFERENT CULTIVARS  
HEUCHERA AND ×HEUCHERELLA**

**Гусева Мария Владимировна**, инженер лаборатории биотехнологии растений, Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН, г. Москва

**Крахмалева Ирина Леонидовна**, младший научный сотрудник лаборатории биотехнологии растений, Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН, г. Москва

**Guseva M.V.** bow-tie@bk.ru

**Krahmaleva I.L.** seglory@bk.ru

**Аннотация**

Работа посвящена оптимизации методов культивирования *in vitro* перспективных сортов *Heuchera L.* и *×Heucherella H.R.Wehrh.* Изучено влияние концентрации макросолей и 6-бензиламинопурина (6-БАП) в составе питательной среды на морфогенетический потенциал растений. Между родами Гейхера и Гейхерелла не было получено достоверной разницы в коэффициенте размножения. На этапе собственно микроразмножения был определен сорт с наибольшим морфогенетическим

Международный журнал прикладных наук и технологий "Integral" потенциалом – Dew Drops. Питательной средой для эффективного размножения Гейхеры и Гейхереллы являлась Murashige and Skoog с полным содержанием макроэлементов и добавлением 6-БАП в концентрации 0,2 мг/л.

### Summary

This work is dedicated to find ways to optimise in vitro cultivation methods for promising cultivars *Heuchera* L. and ×*Heucherella* H.R. Wehrh. The effect of macrominerals and 6-Benzylaminopurine (6-BAP) in the composition of medium on the morphogenetic potential of plants has been studied. There was no credible difference in multiplication coefficient between *Heuchera* and *Heucherella*. At the stage of micropropagation it was identified that the cultivar with the highest morphogenetic potential was Dew Drops. These studies state that the most proper medium for *Heuchera* and *Heucherella* efficient propagation is Murashige and Skoog with the full content of macrominerals and supplemented with 6-BAP at a concentration of 0.2 mg L<sup>-1</sup>.

**Ключевые слова:** Гейхера, Гейхерелла, сорта, клональное микроразмножение

**Keywords:** *Heuchera*, *Heucherella*, cultivars, clonal micropropagation

### Введение

Гейхера (*Heuchera* L.) – род травянистых многолетних растений, которые относятся к семейству Камнеломковые (*Saxifragaceae* Juss.) [1]. Список растений включает 116 научных названий растений видového ранга рода *Heuchera*. Из них 58 являются общепринятыми названиями видов [2]. Род назван в честь немецкого врача и ботаника Иоганна Генриха фон Гейхера. Родиной гейхеры является западная часть Северной Америки. Происхождение видов гейхеры отлично по своей природе из-за географической изоляции и различий в фенологии цветения, но климатические колебания вызвали расширение ареала и контакты между видами, что привело к гибридизации и устойчивым гибридным популяциям [3, 4]. В результате скрещивания гейхеры трясуновидной (*Heuchera* ×*brizoides* hort. ex Lemoine) с тиареллой сердцевидной (*Tiarella cordifolia* L.)

Международный журнал прикладных наук и технологий "Integral" Эмилем Лемуаном в 1912 году во Франции был создан гибридный род Гейхерелла (*×Heucherella* H.R.Wehrh.) [5].

Гейхера и гейхерелла декоративны с момента отрастания листьев и до осенних заморозков, что дает возможность их длительного сезонного использования в различных ландшафтных композициях. Более декоративно они смотрятся в массивах или групповых посадках в передней части бордюра, около водоемов, в миксбордерах и на каменистых горках, для создания контрастных пятен. Так же эти культуры подходят для срезки и использования во флористике и могут выращиваться как комнатные растения [6, 7].

Гейхера и гейхерелла хорошо размножаются делением куста, однако у этого метода имеются такие недостатки, как относительно невысокий коэффициент размножения и слабая корневая система. Применение методов клонального микроразмножения позволяет получить и реализовать большие партии качественного посадочного материала гейхер и гейхерелл [6, 8].

Стоит отметить, что на данный момент проведено малое количество исследований, и все они базируются на изучении представителей рода Гейхера. Большинство авторов проводили исследования на питательной среде Murashige and Skoog, однако были исследования и с использованием минеральных солей по прописи Quorin and Lepoivre. В качестве регуляторов роста использовались цитокинин 6-бензиламинопурин (6-БАП) (от 0,1 до 0,7 мг/л) с добавлением альфа-нафтилуксусной (от 0,01 до 0,2 мг/л) или индолил-3-масляной кислоты (от 0,05 до 0,8 мг/л). Однако увеличение концентрации 6-БАП приводило к образованию оводненных микророзеток [1, 9, 10, 11].

Цель данной работы – оптимизация методов культивирования *in vitro* перспективных сортов Гейхеры и Гейхереллы на этапе собственно микроразмножения.

#### **Материалы и методы**

Место исследования – лаборатория биотехнологии растений Главного ботанического сада имени Н.В. Цицина Российской академии наук (ГБС

Международный журнал прикладных наук и технологий "Integral" РАН). Эксперименты были проведены в 2020-2021 гг.

Объекты исследования были взяты 3 сорта Гейхеры гибридной – Autumn Leaves, Cherry Cola, Dew Drops, и 3 сорта Гейхереллы – Art Deco, Golden Zebra и Solar Eclipse.

В процессе исследования применяли общепринятые и разработанные в лаборатории биотехнологии растений ГБС РАН приемы работы с культурами изолированных тканей и органов растений [12, 13].

На этапе собственно микроразмножения использовали питательную среду с минеральной основой MS (Murashige and Skoog, 1962) [14], с содержанием следующих веществ: сахароза – 30 г/л, агар-агар – 6,8 г/л.

При определении влияния концентрации макросолей в составе питательной среды MS на морфогенетический потенциал использовали питательную среду MS и 1/2 MS, с добавлением 6-БАП в концентрации 0,2 мг/л. В качестве контроля была выбрана среда MS.

При изучении влияния концентрации 6-БАП в составе питательной среды на развитие микророзеток применяли минеральную основу MS с концентрациями 6-БАП 0,1 мг/л и 0,2 мг/л. В качестве контроля использовали среду MS, не содержащую гормонов.

Через 30 дней учитывали такие показатели, как: коэффициент размножения (количество образовавшихся микророзеток) и высоту микророзеток. Исследование проводили в трехкратной повторности, по 10 эксплантов в каждом варианте.

В условиях лаборатории регенеранты Гейхеры и Гейхереллы выращивали при освещении 1500-2000 лк и фотопериоде 16/8 ч., при температуре 23-25 °С.

Для обработки данных использовали программу Microsoft Office Excel 2016. В данном исследовании были проведены иерархический и двухфакторный дисперсионный анализ для выявления доли влияния факторов на коэффициент размножения представителей родов Гейхера и Гейхерелла.  $HCp_{05}$  показывает наименьшую существенную разницу при 5%-ном уровне значимости.

## Результаты и обсуждение

Индукция морфогенеза и способы реализации морфогенетического потенциала зависят от генотипа, исходного эксплантата, состава питательной среды и условий культивирования. Одним из основных факторов, влияющим на процессы морфогенеза и интенсивность пролиферации в культуре *in vitro*, являются минеральные основы питательных сред [15].

В ходе проведенного иерархического анализа установлено, что влияние рода на коэффициент размножения было не достоверным (рис. 1).

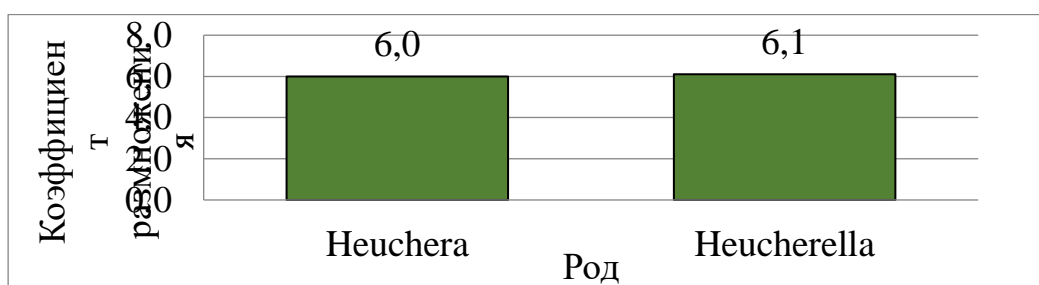


Рисунок 1 - Влияние рода на коэффициент размножения

Все сорта достоверно различались по коэффициенту размножения, при этом сорт Dew Drops отличался от всех и характеризовался наибольшим потенциалом (8,2), а сорт Cherry Cola – наименьшим (4,3) (рис. 2).

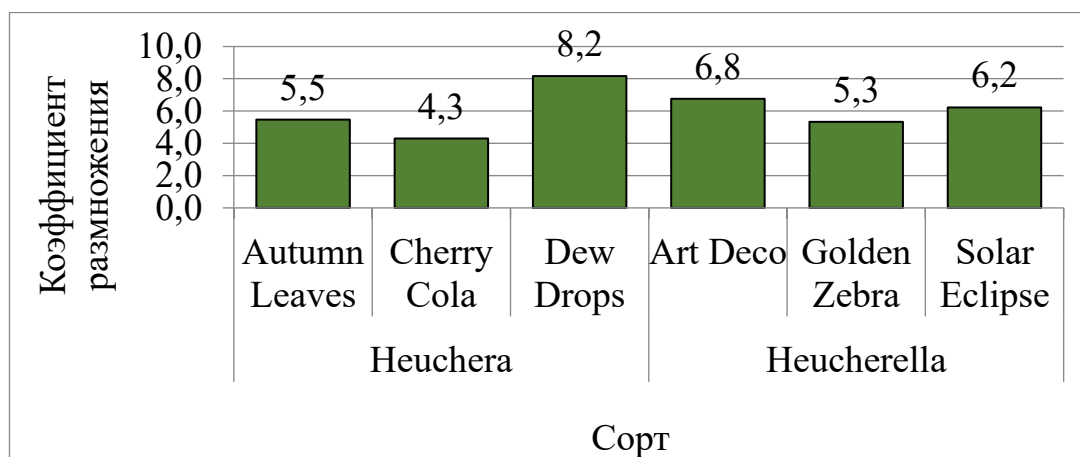


Рисунок 2 - Влияние сортовых особенностей на коэффициент размножения

Гейхеры и Гейхереллы (НСР<sub>05</sub> 1,3)

При подборе оптимального содержания макроэлементов в питательной среде наибольший коэффициент размножения был получен на питательной среде с полным содержанием макроэлементов (рис. 3).



Рисунок 3 - Влияние концентрации минеральной основы на коэффициент размножения ( $HC_{P_{05}} 0,5$ )

Полученная разница между MS и 1/2 MS показывает, что для Гейхеры и Гейхереллы предпочтительна питательная среда с полным содержанием макроэлементов для повышения эффективности микроразмножения. Аналогичные результаты были получены в работе Н. Г. Брель и соавторов [10].

На высоту микророзеток оказывали влияние разные концентрации минеральной основы. На среде 1/2 MS было заметно угнетение роста (1,1 см), а на MS микророзетки выглядели лучше и отличались более высоким ростом (1,4 см) (рис. 4).

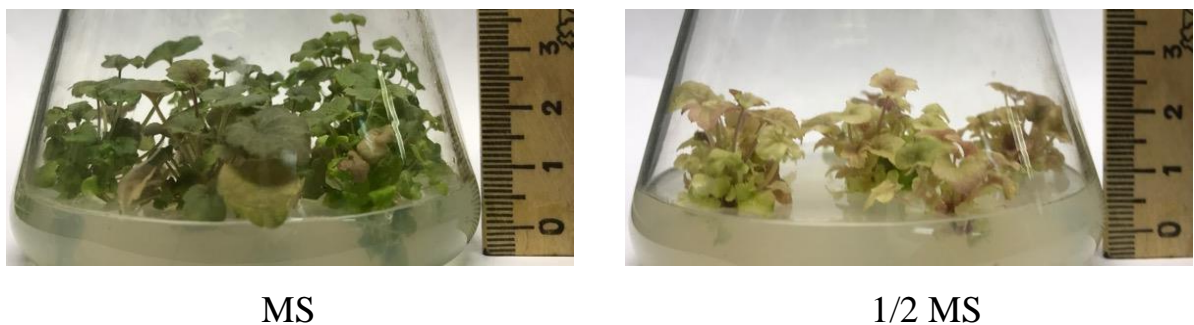


Рисунок 4 - Различия в коэффициенте размножения и высоте микророзеток на примере сорта Golden Zebra

При изучении влияния концентрации 6-БАП в составе питательной среды на развитие микророзеток наблюдали значительные отличия в коэффициенте размножения в зависимости от концентрации 6-БАП. Все сорта отличались интенсивным ростом на среде с содержанием 0,2 мг/л 6-БАП (рис 5).



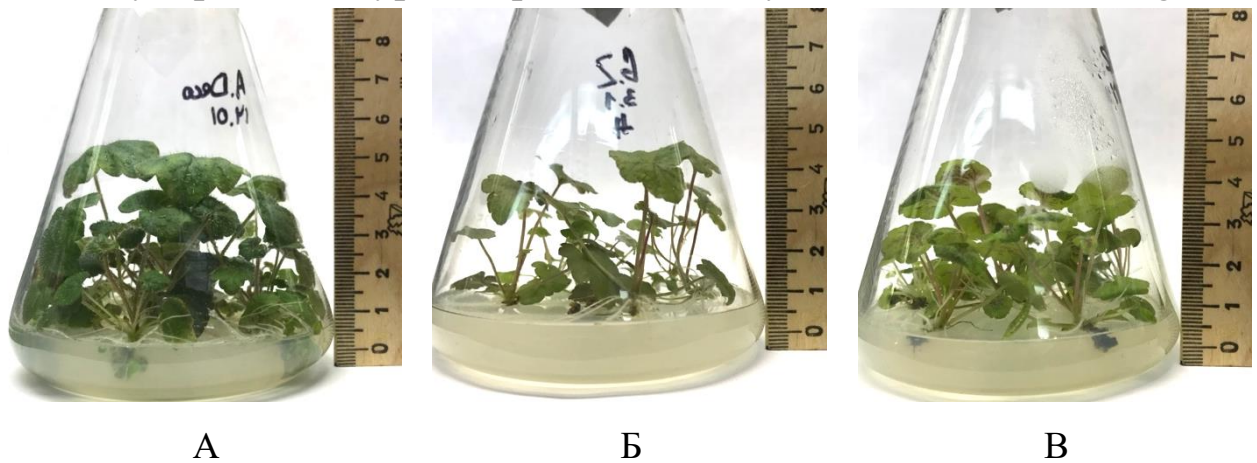


Рисунок 7 - Спонтанный ризогенез на среде Б/Г: А - 'Art Deco', Б - 'Golden Zebra', В - 'Solar Eclipse'

### **Выводы**

В результате проведенных исследований не наблюдалось достоверных различий между родами Гейхера и Гейхерелла. На коэффициент размножения больше всего оказывал влияние состав питательной среды (минеральная основа и концентрация 6-БАП). При культивировании Гейхеры и Гейхереллы эффективно использовать питательную среду Murashige and Skoog (1962) с полным содержанием макроэлементов и применением 6-БАП в концентрации 0,2 мг/л. Наибольшим морфогенетическим потенциалом характеризовался сорт Dew Drops, средним – сорта Autumn Leaves, Art Deco, Golden Zebra и Solar Eclipse, наименьшим – сорт Cherry Cola.

### **Литература**

1. Пугачева Г.М. Субботина, Н.С., Николашина, О.Н., Вдовина, В.С. Особенности клонального микроразмножения гейхеры гибридной // Приоритетные направления развития садоводства (I Потаповские чтения): Материалы Национальной научно-практической конференции, посвященной 85-й годовщине со дня рождения профессора, доктора сельскохозяйственных наук, лауреата Государственной премии Потапова Виктора Александровича. 2019. С. 93-96.



- Международный журнал прикладных наук и технологий "Integral"
2. The Plant List – A working list of all plant species [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/search?q=heuchera>
  3. Головкин Б.Н., Китаева Л.А., Немченко Э.П. Декоративные растения. СССР. М.: Мысль, 1986. С. 161-162.
  4. Bryan D. Ness, Douglas E. Soltis, Pamela S. Soltis. Autopolyploidy in *Heuchera micrantha* (Saxifragaceae). *American Journal of Botany*. 1989. Vol. 76, № 4. С. 614-626
  5. Константинова Н. Гейхерелла. Укрощенная строптивница. // Вестник цветовода. М. 2010. № 8. С. 8-13.
  6. Исачкин А.В, Крючкова В.А., Шарафутдинов Х.В., Скакова А.Г. Декоративное садоводство с основами ландшафтного проектирования. М.: Инфра-М. 2016. 525 с.
  7. Кузнецова Т.Н., Юртаева Н.М., Чуб В.В., Курочкина А.Р., Колобовникова С.А. Астильбы, гейхеры, хосты. Нижний Новгород: Слог. 2012. 112 с.
  8. Баканова В.В. Цветочно-декоративные многолетники открытого грунта. Киев: Наукова думка, 1983. 156 с.
  9. Zhao H.Q. He Qing H., Song Li L., Hou Mei F., Zhang Zhi G. In vitro culture of *Heuchera villosa* 'Caramel' // *HortScience*. 2017. Vol. 52. №. 4. Pp. 622-624.
  10. Брель Н.Г., Фоменко Т.И., Чижик О.В., Козлова О.Н. Особенности роста гейхеры сортов 'Southern Comfort' и 'Obsidian' в культуре in vitro на различных вариантах питательной среды Murasige & Skoog // ЦВЕТОВОДСТВО: ИСТОРИЯ, ТЕОРИЯ, ПРАКТИКА: материалы VII Международной научной конференции. 2016. С. 352-354
  11. Гущин А.В., Калашникова Е.А., Киракосян Р.Н. Оптимизация технологии клонального микроразмножения современных сортов декоративных культур // *Sciences of Europe*. 2019. №. 38-2 (38).
  12. Бутенко, Р.Г. Биология клеток высших растений in vitro и биотехнология на их основе. М.: ФБК-ПРЕСС, 1999. 160 с.
  13. Молканова О.И., Королева О. В., Стахеева Т. С., Крахмалева И. Л., Мелещук Е. А. Совершенствование технологии клонального

Международный журнал прикладных наук и технологий "Integral"  
микроразмножения ценных плодовых и ягодных культур для  
производственных условий // Достижения науки и техники АПК. 2018. Т.  
32, № 9. С. 66-69.

14. Murashige T., Skoog F. Arevised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // *Physiol. Plant.* 1962. Vol. 15. №. 43. Pp. 473-497.

15. Молканова О.И., Горбунов Ю.Н., Ширнина И.В., Егорова Д.А. Применение биотехнологических методов для сохранения генофонда редких видов растений // *Ботанический журнал.* 2020. Т. 105 (6). С. 610-619.

### Literature

1. Pugacheva G.M. Subbotina, N.S., Nikolashina, O.N., Vdovina, V.S. Features of clonal micropropagation of *Heuchera* hybrid // Priority directions of development of gardening (I Potapov readings): Proceedings of the National Scientific and Practical Conference dedicated to the 85th anniversary of the birth of Professor, Doctor of Agricultural Sciences, laureate of the State Prize Potapov Viktor Aleksandrovich. 2019.S. 93-96.
2. The Plant List - A working list of all plant species [Electronic resource]. - Access mode: <http://www.theplantlist.org/tp11.1/search?q=heuchera>
3. Golovkin B.N., Kitaeva L.A., Nemchenko E.P. Ornamental plants. THE USSR. М.: Mysl, 1986.S. 161-162.
4. Bryan D. Ness, Douglas E. Soltis, Pamela S. Soltis. Autopolyploidy in *Heuchera micranta* (Saxifragaceae). *American Journal of Botany.* 1989. Vol. 76, No. 4. P. 614-626
5. Konstantinov N. *Geyherella. The Tamed Shrew.* // *Bulletin of the florist.* М. 2010. No. 8. S. 8-13.
6. Isachkin A.V., Kryuchkova V.A., Sharafutdinov Kh.V., Skakova A.G. Ornamental gardening with the basics of landscape design. М.: Infra-M. 2016.525 s.
7. Kuznetsova T.N., Yurtaeva N.M., Chub V.V., Kurochkina A.R., Kolobovnikova S.A. *Astilbe, geyher, hosts.* Nizhny Novgorod: Syllable. 2012.112 s.

- Международный журнал прикладных наук и технологий "Integral"
8. Bakanova V.V. Floral and decorative perennials in open ground. Kiev: Naukova Dumka, 1983.156 p.
  9. Zhao H.Q. He Qing H., Song Li L., Hou Mei F., Zhang Zhi G. In vitro culture of *Heuchera villosa* 'Caramel' // HortScience. 2017. Vol. 52. no. 4. Pp. 622-624.
  10. Brel NG, Fomenko TI, Chizhik OV, Kozlova ON. Features of growth of *Heuchera* varieties 'Southern Comfort' and 'Obsidian' in in vitro culture on various variants of the culture medium Murasige & Skoog // FLORAL PRODUCTION: HISTORY, THEORY, PRACTICE: materials of the VII International Scientific Conference. 2016. P. 352-354
  11. Gushchin A.V., Kalashnikova E.A., Kirakosyan R.N. Optimization of the technology of clonal micropropagation of modern varieties of ornamental crops // Sciences of Europe. 2019. no. 38-2 (38).
  12. Butenko, R.G. Biology of cells of higher plants in vitro and biotechnology based on them. Moscow: FBK-PRESS, 1999.160 p.
  13. Molkanova O.I., Koroleva O.V., Stakheeva T.S., Krakhmaleva I.L., Meleshchuk E.A. ... 2018.Vol. 32, No. 9, pp. 66-69.
  14. Murashige T., Skoog F. Arevised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiol. Plant. 1962. Vol. 15.No. 43. Pp. 473-497.
  15. Molkanova O.I., Gorbunov Yu.N., Shirnina I.V., Egorova D.A. Application of biotechnological methods to preserve the gene pool of rare plant species // Botanical Journal. 2020.Vol. 105 (6). S. 610-619.

© Гусева М.В., Крахмалева И.Л., 2021 *Международный журнал прикладных наук и технологий "Integral" №4/2021.*

**Для цитирования:** Гусева М.В., Крахмалева И.Л. Особенности регенерации разных сортов *Heuchera* и *×Heucherella* в культуре in vitro// Международный журнал прикладных наук и технологий "Integral" №4/2021