



PlantGen
2025

Биотехнологические приемы поддержания коллекции *Chrysanthemum x morifolium* Ramat. *in vitro*

Н.В. Корзина, Н.Н. Иванова, Н.П. Лесникова-Седошенко,
И.В. Жданова, С.В. Челомбит, Н.В. Смыкова

ФГБУН «Никитский ботанический сад – Национальный научный
центр РАН», Ялта, Россия

В качестве первичных эксплантов использовали верхушки побегов 23 сортов крупноцветковой и мелкоцветковой хризантемы садовой (*Chrysanthemum* × *morifolium* Ramat.) из коллекции НБС-ННЦ: Валентина Терешкова, Египтянка, Краски Осени, Мокрое Серебро, Предраассветный Аю-Даг, Пурпуровая Луна, Розовый Фламинго, Чародейка, Эльдorado, Эрмитаж, Эстет, Biogudi Purple, Biogudi Red, Discovery, Excell, Kiko, Madame Bernar d'Soi, Nary, Natasha, Rezume Sten Dark, Sheer Purple, William Seward, Ziveno.

Стерильные экспланты культивировали на среде Мурасиге и Скуга (МС), дополненной кинетином в различных концентрациях, 0,25 мг/л НУК. Среды содержали 30,0 г/л сахарозы и 9,0 г/л агара. Укоренение микропобегов осуществляли на среде ½ МС, дополненной ауксинами: 0,5 мг/л НУК; 0,5 мг/л ИУК; 0,5 мг/л НУК + 0,5 мг/л ИУК. Для депонирования использовали верхушки микропобегов растений, культивируемых *in vitro* в течение 6 месяцев. У эксплантов длиной 1,0 см удаляли листья и помещали на среду ¼ МС, дополненную 0,4-0,6 г/л хлорхолинхлорида (ССС), 60 г/л сахарозы и 9 г/л агар-агара. Контроль – среда ¼ МС, дополненная 60 г/л сахарозы. Депонирование *in vitro* осуществляли при температуре $4 \pm 1^\circ\text{C}$ и интенсивности освещения $1,25 \text{ мкМ м}^{-2} \text{ с}^{-1}$.



Проведенными исследованиями показано влияние генотипа, регуляторов роста в питательной среде на морфогенез *in vitro* сортов хризантемы садовой. На всех этапах клонального микроразмножения четко прослеживались сортовые различия. Оптимальная концентрация кинетина в среде МС для индукции множественного адвентивного побегообразования составила 0,5-1,5 мг/л. Через 30 сут культивирования получено, в среднем, по сортам $4,90 \pm 0,53$ – $11,56 \pm 2,20$ дополнительных микропобегов/эксплант.



Таблица 1. Регенерационный потенциал сортов хризантемы садовой после третьего субкультивирования *in vitro* на питательной среде МС, дополненной 0,75 мг/л кинетина и 0,25 мг/л НУК

Table 1. Regeneration capacity of garden chrysanthemum cultivars after the third subcultivation *in vitro* on MS culture medium with 0.75 mg/l kinetin and 0.25 mg/l NAA

Генотип	Длина побега, см	К-во дополнительных микропобегов/эксплант, шт.	К-во листьев, шт.
Валентина Терешкова	$4,31 \pm 0,21$	$9,40 \pm 1,23$	$4,56 \pm 0,29$
Эльдорадо	$3,43 \pm 0,14$	$8,43 \pm 1,22$	$4,33 \pm 0,42$
Sheer Purple	$2,84 \pm 0,20$	$9,48 \pm 0,85$	$4,18 \pm 0,23$
William Seward	$3,21 \pm 0,22$	$10,20 \pm 0,68$	$4,70 \pm 0,395$
Ziveno	$4,33 \pm 0,12$	$14,12 \pm 1,08$	$4,40 \pm 0,24$
Мокрое Серебро	$3,06 \pm 0,20$	$11,56 \pm 2,20$	$5,60 \pm 0,16$
Предраассветный Аю-Даг	$3,76 \pm 0,17$	$6,54 \pm 0,34$	$5,10 \pm 0,23$
Пурпуровая Луна	$2,60 \pm 0,05$	$3,55 \pm 0,89$	$4,53 \pm 0,12$
Чародейка	$2,68 \pm 0,15$	$3,50 \pm 0,15$	$6,50 \pm 0,65$
Эрмитаж	$4,23 \pm 0,17$	$14,62 \pm 1,24$	$6,50 \pm 0,30$
Эстет	$2,20 \pm 0,13$	0	$6,0 \pm 0,53$
Excell	$2,12 \pm 0,65$	$1,20 \pm 0,18$	$4,36 \pm 0,63$
Kiko	$4,13 \pm 0,07$	$9,75 \pm 1,25$	$3,60 \pm 0,40$
Madame Bernar d'Soi	$3,85 \pm 0,27$	$6,14 \pm 0,14$	$6,30 \pm 0,49$
Nary	$2,85 \pm 0,20$	$7,50 \pm 0,15$	$5,10 \pm 0,59$
Resume Sten Dark	$3,12 \pm 0,16$	$4,90 \pm 0,53$	$5,10 \pm 1,38$

Современным биотехнологическим подходом сохранения растений является создание и поддержание коллекции ценных генотипов в культуре *in vitro*. Наиболее часто используется способ сохранения растений *in vitro* – депонирование в условиях пониженной температуры при слабом уровне освещения, которое приводит к значительному замедлению физиологических процессов и роста растений. Для торможения роста растений в питательную среду часто добавляют осмотики (сорбит, маннит, повышают концентрацию сахарозы) и ретарданты (ССС, абсцизовая кислота). Использование осмотиков и ретардантов в сочетании с пониженной температурой – наиболее эффективный метод, демонстрирующий синергетический эффект при сохранении многих видов *in vitro*.

После 12 месяцев сохранения наблюдали снижение кинетики роста эксплантов и жизнеспособности (с 96 до 91%) по мере увеличения концентрации СССР в среде. Анализ морфометрических показателей хризантемы показал, что с ростом концентрации СССР замедлялся рост побегов и образование листьев, наблюдали некроз листьев и верхушек побегов. После 12 месяцев сохранения все экспланты в первом пассаже образовывали адвентивные микропобеги. Однако у побегов исследуемых сортов, депонируемых на среде с 0,6; 0,8 и 1,0 г/л СССР, отмечали удлинение междоузлий, пожелтение листьев, уменьшение диаметра побегов, изменение формы листа. Для снижения возникновения негативных последствий при последующем после длительного депонирования клональном микроразмножении рекомендовано использование низких (0,2–0,4 г/л) концентраций СССР.

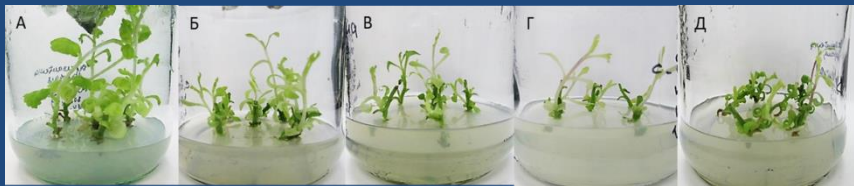


Рис. 1. Экспланты хризантемы садовой сорта Rezume Sten Dark после 12 месяцев депонирования при температуре 4°C на среде ¼ МС: А – контроль; Б – 0,2 г/л СССР; В – 0,4 г/л СССР; Г – 0,6 г/л СССР и Д – 0,8 г/л СССР

Fig.1. Explants of garden chrysanthemum cv. Rezume Sten Dark after 12 month of deposition at 4°C on ¼ MS medium: A – control, B – 0,2 g/l CCC, B – 0,4 g/l CCC, G – 0,6 g/l CCC and D – 0,8 g/l CCC .

Таблица 2. Морфометрические характеристики эксплантов хризантемы садовой после 12 месяцев депонирования
Table 2 Morphometric characteristics of garden chrysanthemum explants after 12 months of deposition

Концентрация СССР, г/л	Длина побега, см	Количество листьев/ побег, шт.	Количество корней/ побег, шт.	Длина корня, см	Жизнеспособность, %
сорт Валентина Терешкова					
Контроль	2,66 ± 0,05	5,30 ± 0,20	0	0	97,0 ± 0,23
0,2	2,54 ± 0,16	5,20 ± 0,44	0,55 ± 0,43	0,65 ± 0,40	96,20 ± 0,23
0,4	1,89 ± 0,04	4,40 ± 0,30	0	0	94,70 ± 0,33
0,6	1,58 ± 0,07	4,10 ± 0,23	0	0	93,10 ± 0,46
0,8	1,47 ± 0,08	3,20 ± 0,38	0	0	91,20 ± 0,43
сорт Rezume Sten Dark					
Контроль	3,30 ± 0,44	6,0 ± 0,43	0	0	96,90 ± 0,31
0,2	2,66 ± 0,22	5,40 ± 0,40	1,33 ± 47	0,95 ± 0,31	94,40 ± 0,36
0,4	1,55 ± 0,24	4,20 ± 0,64	0	0	92,60 ± 0,37
0,6	1,51 ± 0,16	3,80 ± 0,40	0	0	92,10 ± 0,41
0,8	1,36 ± 0,19	3,60 ± 0,36	0	0	91,40 ± 0,38

Применение осмотиков и ретардантов в среде способствовало возникновению структурных и функциональных перестроек, направленных на снижение ассимиляционных процессов. Закладка множественных адвентивных почек у микропобегов свидетельствовала о высоком морфогенном потенциале эксплантов хризантемы после сохранения в течение 12 месяцев.

Таблица 3. Ризогенез микропобегов некоторых сортов хризантемы садовой на среде ½ МС с различными ауксинами
 Table 3. Rhizogenesis of some cultivars of garden chrysanthemum microshoots on MS medium with various auxins

Сорт	Параметры *	Концентрация ауксинов в питательной среде ½ МС			
		0 (К)	0,5 мг/л ИУК	0,5 мг/л НУК	0,5 мг/л ИУК + 0,5 мг/л НУК
'Эльдорадо'	1	7,50 ± 0,22	7,67 ± 0,33	13,7 ± 0,33	7,83 ± 0,31
	2	6,33 ± 0,49	2,22 ± 0,26	1,78 ± 0,09	1,53 ± 0,14
'Эрмитаж'	1	5,83 ± 0,31	8,5 ± 0,22	14,67 ± 0,33	4,33 ± 0,21
	2	2,63 ± 0,16	1,65 ± 0,15	1,25 ± 0,11	0,93 ± 0,08
'Kiko'	1	10,0 ± 0,26	7,83 ± 0,17	11,0 ± 0,27	8,0 ± 0,26
	2	5,74 ± 0,35	4,72 ± 0,16	1,03 ± 0,06	1,60 ± 0,04
'Ziveno'	1	12,33 ± 0,33	8,50 ± 0,22	14,0 ± 0,37	8,83 ± 0,31
	2	3,68 ± 0,16	3,25 ± 0,34	1,40 ± 0,06	1,47 ± 0,04

1* - количество корней, шт./побег

2* - средняя длина корней, см

Активное корнеобразование наблюдали у побегов хризантемы на среде ½ МС + 0,5 мг/л НУК. В среднем получено $7,54 \pm 0,43$ – $14,0 \pm 0,37$ корней/побег длиной до $4,72 \pm 0,16$ см. В вариантах опыта с 0,5 мг/л ИУК или 0,5 мг/л ИУК + 0,5 мг/л НУК количество укорененных побегов было значительно меньше. Выявлено, что у исследуемых сортов, наряду с формированием главного корня, происходило активное развитие боковых корней, что имело большое значение при дальнейшей адаптации растений к условиям *ex vitro*. Полученные регенеранты имели хорошую облиственность, что обеспечило высокую жизнеспособность хризантемы садовой после пересадки в нестерильные условия выращивания.

Ризогенез *in vitro*



Таким образом, проведенные исследования показали эффективность разработанных нами приемов клонального микроразмножения и депонирования в условиях *in vitro* ценных генотипов хризантемы садовой.

БЛАГОДРИМ ЗА ВНИМАНИЕ!
THANK YOU FOR YOUR ATTENTION!

Благодарность: Исследование поддержано Госзаданием FNNS-2025-0003 ФГБУН «НБС-ННЦ» на оборудовании Уникальной научной установки «ФИТОБИОГЕН» (Ялта, Россия).