

УДК 581.16:75.085.2(582.992)

## Введение в культуру *in vitro* и размножение *Platycodon grandiflorum* (Jacq.) A. DC. (Campanulaceae)

### The induction of *in vitro* culture and propagation of *Platycodon grandiflorum* (Jacq.) A. DC. (Campanulaceae)

Чурикова О. А.

Churikova O. A.

Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова. E-mail: ochurikova@yandex.ru

Lomonosov Moscow State University

**Реферат.** Разработана технология введения в стерильную культуру и микроклонального размножения *Platycodon grandiflorum* (Jacq.) A. DC. Наилучшие результаты были получены при выращивании микропобегов на среде MS с добавлением 0,5 мг/л 2iP и 0,1 мг/л NAA. На этой же среде наблюдалось и корнеобразование, что позволяло исключить необходимость использования специальной среды для индукции ризогенеза. Полученные результаты могут служить основой для проведения дальнейших исследований по сохранению ширококолокольчика в коллекции *in vitro*.

**Summary.** Sterile culture and ways of microclonal propagation technology of *Platycodon grandiflorum* (Jacq.) A. DC. are established. The best results of microshoots grafting were obtained on MS plant medium with 0.5 mg/l 2iP and 0.1 mg/l NAA. Rhizogenesis was observed on the same medium. This fact allowed to exclude the necessity of special rooting medium application. The results may be the foundation of further investigations on preservation of balloon flower in collection *in vitro*.

**Платикодон крупноцветковый** (*Platycodon grandiflorum* (Jacq.) A. DC.) (Campanulaceae), или ширококолокольчик, – многолетнее травянистое растение природной флоры Сибири, Дальнего Востока, северо-западных областей Китая, Кореи и Японии. Произрастает на лугах, лесных опушках и полянах, встречается на каменистых склонах, среди кустарников (Кожевников, 1996). В местах природного обитания это растение широко применяют в народной медицине, особенно в китайской и корейской, в качестве гемолитического, противовоспалительного и отхаркивающего средства (Nyakudya et al., 2014). Корни ширококолокольчика содержат сапонины, инулин, протеин, кальций, железо, фосфор и другие минеральные элементы, а также витамины B1 и B2. В Корею его также специально выращивают ради съедобных корней, которые широко используют в кулинарии для приготовления салатов, рагу и мясных блюд.

В Европу платикодон был завезен лишь в конце XVIII в., а более-менее широкое распространение в садах получил еще позже – в середине XIX. Спустя столетия в ассортименте российских питомников насчитывалось несколько форм платикодона крупноцветкового. При подборе подходящего места в саду растение способно украшать цветник в течение долгих лет. В условиях средней полосы успешно зимует, весной просыпается поздно, на 3 недели позже большинства многолетников и формирует красивый прочный кустик с сизоватыми гладкими листьями, а в июле зацветает. Платикодон декоративен уже в причудливых шарообразных бутонах, которые долго не открываются. Цветки довольно крупные, голубые, с более темными жилками. В настоящее время выведены сорта с крупными, до 8 см в диаметре, синими, фиолетовыми, розовыми, белыми, а также многолепестковыми цветками. Взрослое многостебельное растение цветет не менее двух месяцев и остается декоративным в сентябре, когда листья приобретают сначала лимонную, а затем желтую с багрянцем окраску и держатся до заморозков. Размножают платикодон, главным образом, семенами, гораздо реже – черенками, деление куста и пересадку растение переносит очень плохо.

Целью нашей работы было введение в стерильную культуру платикодона крупноцветкового и разработка приемов его микрклонального размножения для последующего сохранения в коллекции *in vitro*.

Объектом исследований послужили растения *Platycodon grandiflorum*, выращиваемые в Ботаническом саду МГУ на Воробьевых горах. Для введения в стерильную культуру использовали семена. Семена 2–2,4 мм длиной, 1–1,3 мм шириной, эллиптические, уплощенные, черные, гладкие. Их последовательно замачивали в фундазоле на 20–30 мин, в 70%-м этиловом спирте на 1–2 мин, после чего подвергали стерилизационной обработке в 3%-м растворе лизоформина, а затем промывали 3 раза в стерильной воде. Подготовленные таким образом семена помещали в культуральные сосуды на среду для индукции морфогенеза по прописи Мурасиге и Скуга (MS) (Murashige, Skoog, 1962) с добавлением 30 г/л сахарозы без гормональных регуляторов роста и содержали при температуре 4 °С. Спустя 1,5 месяца семена проросли, и сосуды с проросшими семенами переносили на стеллажи, где далее продолжали выращивание растений при 21 °С. Верхушки побегов помещали на среду MS с 1,5 мг/л 2iP, на которой происходило дальнейшее наращивание числа метамеров и их рост. При длительном культивировании на этой среде наблюдали развитие многочисленных (до 10) микропобегов из пазушных почек нижнего узла побега.

Полученные растения делили на микрочеренки, состоящие из одного узла и пазушных почек, которые высаживали на питательную среду MS с добавлением гормонов цитокининового ряда или в сочетании их с ауксинами. В ходе эксперимента нами были протестированы среды следующего состава:

- 1) MS с 0,5–1,5 мг/л бензиладенина (BAP);
- 2) MS с 0,5–1,5 мг/л N6-(2-изопентиладенина) (2iP);
- 3) MS с 0,5 мг/л 2iP и 0,1 мг/л нафтилуксусной кислоты (NAA).



Рис. Растения-регенеранты *Platycodon grandiflorum* на среде для размножения (MS + 0,5 мг/л 2iP + 0,1 мг/л NAA).

При анализе морфогенетических процессов, происходящих в культуре платикодона *in vitro* на среде MS с 0,5 мг/л ВАР, наблюдали формирование из пазушных почек экспланта утолщенных и витрифицированных побегов 0,7–1,2 см длиной. При увеличении концентрации ВАР в среде до 1,5 мг/л происходило развитие побегов 0,8–1,4 см длиной. В свою очередь, эти побеги могли претерпевать ветвление – в пазухах листьев узла также формировались побеги 0,3–0,4 см длиной. Все побеги отличались мелкими листьями и практически не наращивали новых метамеров.

При высаживании полученных микропобегов на среду с более низким содержанием цитокинина в сочетании с ауксином (MS + 0,5 мг/л 2iP + 0,1 мг/л NAA) через 3,5 месяца культивирования наблюдали формирование хорошо олиственных побегов 4,5–6,0 см длиной, с 5 узлами. В пазухе самых нижних листьев трогались в рост почки, из которых развивались побеги второго порядка. Полученные нами результаты согласуются с имеющимися в литературе данными о наилучшем развитии побегов на среде MS с одновременным добавлением низких концентраций цитокининов и ауксинов (0,1 мг/л ВАР и 0,5 мг/л индолилуксусной кислоты) (Soo Jeong Kwon et al., 2014). Однако, в отличие от полученных авторами результатов по наилучшему укоренению побегов на среде с уменьшенной в 4 раза концентрацией макросолей и увеличенным в 2,5 раза содержанием сахарозы, в нашем эксперименте заложение разветвленных придаточных корней (4–5 на эксплант) наблюдалось на той же среде. Спустя 3,5 месяца культивирования их длина составляла 6,0–6,5 см.

Таким образом, проведенные нами исследования позволили разработать технологию получения стерильной культуры *Platycodon grandiflorum* и подобрать оптимальный состав питательной среды для его размножения *in vitro*. Наилучшие результаты были получены при выращивании микропобегов на среде MS с добавлением 0,5 мг/л 2iP и 0,1 мг/л NAA (рис.). На этой же среде наблюдалось и корнеобразование, что позволяло исключить необходимость использования специальной среды для индукции ризогенеза. Полученные результаты могут служить основой для проведения дальнейших работ по сохранению ширококолокольчика в коллекции *in vitro*.

**Благодарности.** Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 14-50-00029 (направление «Растения»)).

#### ЛИТЕРАТУРА

- Кожевников А. Е. Род *Platycodon* A. DC. // Сосудистые растения советского Дальнего Востока. В 8 тт. / отв. ред. С. С. Харкевич. – СПб.: Наука, 1996. – Т. 8. – С. 273–274.
- Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture // *Physiol. Plant.*, 1962. – Vol. 104. – P. 473–497.
- Nyakudya E., Jeong J. H., Lee N. K., Jeong Y. S. Platycosides from the roots of *Platycodon grandiflorum* and their health benefits // *Preventative Nutrition and Food Science*, 2014. – Vol. 19, № 2. – P. 59–68.
- Soo Jeong Kwon, Kab Yeon Cho, Hag Hyun Kim. Medium composition and growth regulator on organogenesis *Platycodon grandiflorum* (Jacq.) A. DC. with yellow green petals // *The Plant Resources Society of Korea*, 2014, Vol. 27, № 1. – P. 43–50.