

DOI 10.5281/zenodo.10279273

EDN EUHNEH

УДК 631.532:581.143.6

Жолобова О. О., Терещенко Т. В.

ОПТИМИЗАЦИЯ УГЛЕВОДНОГО СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ ПРИ МИКРОКЛОНАЛЬНОМ РАЗМНОЖЕНИИ *COTINUS COGGYGRIA* SCOP.

ФГБНУ «Федеральный научный центр агроэкологии, комплексных мелиораций и защитного лесоразведения Российской академии наук»

Реферат. Одним из факторов, влияющих на процессы гемморизогенеза в культуре *in vitro*, является выбор источника углеводного питания и его концентрация в питательной среде. Для разработки эффективного протокола микроклонального размножения *Cotinus coggygría* необходимо учитывать роль отдельных компонентов на всех этапах культивирования *in vitro*. Цель исследований – оценить влияние различных источников углевода и их концентраций на морфогенетический потенциал и ризогенез микропобегов *Cotinus coggygría* Scop. для оптимизации культивирования *in vitro*. В качестве основной питательной среды использовали Мурасиге и Скуга без добавления гормонов, источниками углеводного питания были определены: сахароза и глюкоза в концентрациях 10, 20, 30 г/л и их сочетание по 15 г/л. По окончании периода культивирования оценивали морфологические показатели: длину побега, коэффициент размножения, показатели ризогенеза, такие как частота корнеобразования, число корней первого и второго порядка и их длина. Проведен анализ концентрации фотосинтетических гормонов в листовых пластинах эксплантов и значений индекса азотного баланса (NBI). В результате проведенных исследований замена сахарозы на глюкозу оказала положительный эффект на длину и коэффициент размножения микропобегов *C. coggygría*. Все образцы отличались энергичным ростом и выровненными морфометрическими показателями. При культивировании *C. coggygría* на среде, содержащей 30 г/л сахарозы, был отмечен максимальный процент укорененных микропобегов – 70 %. На питательных средах, содержащих 30 г/л глюкозы и в вариантах с глюкозой и сахарозой по 15 г/л процент укорененных побегов снижался на 20 и 35 % соответственно, но качественные характеристики, такие как толщина, наличие корневых волосков и корней второго порядка значительно возрастали. Максимальные значения концентрации хлорофилла и индекса азотного баланса в листовых пластинах были отмечены на средах с сахарозой 30 г/л и совместном применении сахарозы и глюкозы. Таким образом, совместное применение сахарозы и глюкозы в культуральной среде в равных долях по 15 г/л оказало стимулирующее действие на длину побега, коэффициент размножения и наличие корней второго порядка по сравнению с применением только сахарозы или глюкозы по отдельности.

Ключевые слова: скумпия кожевенная (*Cotinus coggygría* Scop.), культура *in vitro*, сахароза, глюкоза, коэффициент размножения, индукция ризогенеза, хлорофилл, NBI.

Для цитирования: Жолобова О. О., Терещенко Т. В. Оптимизация углеводного состава питательной среды при микроклональном размножении *Cotinus coggygría* Scop. // Таврический вестник аграрной науки. 2023. № 4(36). С. 102–112. EDN: EUHNEH. DOI: 10.5281/zenodo.10279273.

For citation: Zholobova O. O., Tereschenko T. V. Optimization of the carbohydrate composition of the nutrient medium for microclonal propagation of *Cotinus coggygría* Scop. // Taurida Herald of the Agrarian Sciences. 2023. No. 4(36). P. 102–112. EDN: EUHNEH. DOI: 10.5281/zenodo.10279273.

Введение

Разработка эффективных протоколов микроклонального размножения отдельных

видов включает многофакторный подход для определения оптимального состава питательной среды. Унифицировать технологию культивирования растительных тканей для конкретного растения не представляется возможным, так как отдельные компоненты оказывают значительное влияние на морфогенетический потенциал *in vitro* объектов [1]. Необходимо учитывать роль каждого элемента питательной среды на всех этапах культивирования *in vitro*. Основным источником питания в культуральных средах являются углеводы, которые также влияют на осмотические характеристики жидкости, участвующей в регулировании интенсивности протекания физиологических процессов.

В целом, растительный материал, полученный в культуре *in vitro*, обладает низкой фотосинтетической способностью для достижения положительного углеродного баланса. Поэтому требуется непрерывное поступление углеводов из культуральной среды [2]. На частоту, рост и скорость размножения влияют тип и концентрация используемого источника углеводов [3]. В культуре *in vitro* чаще всего применяют сахарозу [4, 5], так как она является преобладающим углеводом в соке флоэмы большинства видов растений [6]. Несмотря на это, при размножении ряда видов, кроме сахарозы можно успешно использовать и другие моно- и дисахариды: мальтозу, глюкозу и фруктозу [7, 8].

Анализ литературных данных подтвердил наличие большого числа исследований по изучению влияния различных типов и концентраций углеводов на регенерацию микропобегов в культуре *in vitro*. Для представителей рода *Lonicera* L. установлено, что наибольшее влияние на высоту микропобегов оказывает концентрация углевода, а на коэффициент размножения – тип углеводного питания [9]. Большинство авторов отмечают видоспецифичность или сортовую реакцию изучаемых объектов, при этом указывают и общие закономерности, например, на высоких концентрациях сахарозы, несмотря на худшую сохранность, было зафиксировано замедление ростовых процессов побега и его раннее вызревание, а также снижение интенсивности ризогенеза [10, 11]. В тоже время, высокие концентрации сахарозы (70 г/л) способствовали беспересадочному культивированию 12-ти сортов винограда в течение девяти месяцев при сохранившейся жизнеспособности растений [12]. В работах Матушкиной О. В. с соавторами увеличение концентрации сахарозы до 40 г/л позволило продлить длительность хранения эксплантов подвоя груши ПГ 12 до 46 месяцев и подвоя яблони 62-396 до 24 месяцев [13].

Для такой культуры как картофель оптимальные концентрации сахарозы варьировали в диапазоне 40–60 г/л, при этом увеличивалась длина побега и количество междоузлий, у некоторых сортов коэффициент размножения возрастал вдвое [14]. При пониженных концентрациях сахарозы (10–20 г/л) клубнеобразования не происходило, снижался коэффициент размножения и ростовые процессы микропобегов [15].

Замена в питательной среде сахарозы на глюкозу дает хорошие результаты при культивировании клематисов, сирени, лимонника китайского и при индукции морфогенеза сливы домашней [7]. Лучшим источником углеводов для культивирования и получения множественных побегов *Pfaffia glomerata* также являлась глюкоза [16]. При оптимизации приемов культивирования перспективных плодовых и ягодных культур *in vitro* использование глюкозы на этапе пролиферации позволило увеличить коэффициент размножения у большинства объектов в два раза [17]. Глюкоза в концентрации 30 г/л оказала положительное влияние на регенерацию микропобегов некоторых представителей рода *Rosa* L. и *Pinus pinea* L. [18, 19].

Рост и эффективность размножения растений *in vitro* зависят от многих факторов, одним из которых является концентрация и тип используемого экзогенного источника углевода. В питательной среде углевод является источником энергии для культивируемых растений и основным осмотическим агентом [7]. Определение оптимального типа экзогенных углеводов и их концентрации является неотъемлемой

частью разработки протокола микрклонального размножения отдельных видов. Работы по микрклональному размножению скумпии кожевенной (*Cotinus coggygria* Scop.) в основном проводили на коммерческом сорте Royal Purple. Данные исследования были направлены на подбор оптимальных комбинаций фитогормонов для индукции ризогенеза, но отдельные аспекты протокола культивирования микропобегов требуют доработки [20, 21].

C. coggygria имеет важное значение в степном защитном лесоразведении, используется для закрепления оврагов и обнаженных склонов, засухоустойчива и нетребовательна к почве [22], поэтому разработка элементов технологии клонального микроразмножения позволит в дальнейшем более эффективно проводить ускоренные программы по селекции древесно-кустарниковых видов, перспективных в борьбе с опустыниванием в селекционно-семеноводческом центре ФГБНУ «Федеральный научный центр агроэкологии, комплексных мелиораций и защитного лесоразведения Российской академии наук».

Цель исследований – оценить влияние различных источников углевода и их концентраций на морфогенетический потенциал и ризогенез микропобегов *Cotinus coggygria* Scop. для оптимизации культивирования *in vitro*.

Материалы и методы исследований

Работу проводили на базе лаборатории биотехнологий ФГБНУ «Федеральный научный центр агроэкологии, комплексных мелиораций и защитного лесоразведения Российской академии наук» в 2022–2023 гг.

Для оптимизации протокола микрклонального размножения *Cotinus coggygria* Scop. (скумпия кожевенная) была проведена оценка влияния двух экзогенных источников углеводов и их концентраций на регенерационную способность микропобегов.

В качестве основной питательной среды использовали протокол Мурасиге и Скуга (MS) [23] без добавления гормонов, источниками углеводного питания были определены: сахароза и глюкоза в концентрациях 10, 20, 30 г/л и их совместное использование в культуральной среде по 15 г/л. В стандартном протоколе микрклонального размножения в качестве источника углеводов используют сахарозу в концентрации 30 г/л, поэтому условно этот состав культуральной среды считали за контрольный вариант.

В эксперименте использовали сегменты побега 1,5–2,0 см с двумя междоузлиями, которые помещали в биологические пробирки с 15 мл питательной среды. Культивирование проводили в течение 45 дней при температуре 24–26 °С, освещенности 70 мкмоль/с/м² и 16-часовом фотопериоде на фитостеллажах «СТЕЛЛАР-ФИТО LINE» (Россия). Исследование осуществляли в трехкратной повторности, для каждой концентрации анализировали по 30 эксплантов.

По окончании периода культивирования оценивали морфологические показатели: длину побега, коэффициент размножения (количество микропобегов с одним междоузлем, на которое можно расчеренковать эксплант для дальнейшего культивирования), показатели ризогенеза, такие как частота корнеобразования, число корней первого и второго порядка и их длина. Также оценивали влияние типа и концентрации сахарозы и глюкозы на изменение фотосинтетических пигментов и индекса азотного баланса регенерантов *C. coggygria*. По некоторым литературным данным, сахароза играет ключевую роль в обеспечении источников углеводов, но одновременно она может также являться триггером для ингибирования фотосинтеза с обратной связью [24]. Количество хлорофилла, флавоноидов и NBI (индекс азотного баланса) в листьях определяли с помощью флавоноид- и хлорофиллометра Dualox (Франция) [25].

Результаты статистически обработаны с использованием программы Statistica 12 компании StatSoft Inc. и представлены в виде средней арифметической с учетом ошибки среднего. Сравнение полученных результатов между собой проводили по U-критерию Манна-Уитни и Tukey's HSD Post Hoc тесту. Статистически значимыми считали различия при $p \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Отсутствие гормонов в питательной среде оказало влияние на коэффициент размножения, который был невысокий и варьировал в диапазоне 1,2–2,3 (таблица). Минимальные значения были зафиксированы на культуральных средах с сахарозой. Добавление глюкозы способствовало равномерному повышению коэффициента размножения на 40 % по сравнению с контролем. В исследованиях по микроклональному размножению *Rubus idaeus* L. замена сахарозы на глюкозу также способствовала повышению коэффициента размножения вдвое [26]. Для *Lonicera caerulea* L. данный показатель составлял 42 при добавлении в среду для размножения 30 г/л глюкозы [27].

Таблица – Особенности гемморизогенеза микропобегов *C. coggygia* в зависимости от углеводного компонента в питательной среде

Тип и концентрация углевода в питательной среде MS	Длина побега, см	Коэффициент размножения, шт./побег	Длина корня, см	Число корней, шт./побег
Сахароза 10 г/л	2,4 ± 0,1 а	1,2 ± 0,1 в	3,6 ± 0,1 а	1,5 ± 0,5 а
Сахароза 20 г/л	3,1 ± 0,4 аб	1,7 ± 0,2 абв	4,7 ± 0,3 а	1,2 ± 0,2 а
Сахароза 30 г/л	3,1 ± 0,5 аб	1,4 ± 0,2 бв	4,5 ± 0,6 а	1,1 ± 0,1 а
Глюкоза 10 г/л	3,3 ± 0,1 а	2,0 ± 0,1 аб	4,8 ± 1,6 а	1,0 ± 0,1 а
Глюкоза 20 г/л	3,7 ± 0,3 а	2,0 ± 0,1 аб	4,6 ± 0,7 а	1,4 ± 0,3 а
Глюкоза 30 г/л	3,5 ± 0,7 а	1,9 ± 0,1 абв	4,4 ± 1,1 а	1,6 ± 0,2 а
Сахароза 15 г/л + Глюкоза 15 г/л	3,1 ± 0,2 аб	2,3 ± 0,1 а	5,4 ± 0,7 а	1,6 ± 0,4 а

Примечание. В таблице представлены средние значения ± ошибка среднего, различные буквы (здесь и далее) в столбце означают статистические различия согласно HSD Post Hoc тесту при $p \leq 0,05$.

Максимальное значение коэффициента (2,3) зафиксировано на среде с добавлением сахарозы и глюкозы. Низкая концентрация сахарозы (10 г/л) ингибировала рост побега, также наблюдали увядание листовых пластин первичного экспланта и наличие хлороза на вновь образованных более мелких листовых пластинах (рисунок 1).



Рисунок 1 – Микропобеги *C. coggygia* на экспериментальных средах

Примечание. А – MS сахароза 10 г/л; Б – MS глюкоза 10 г/л.

При низкой концентрации глюкозы 10 г/л микропобеги отличались выравненными показателями роста и морфологии. В целом на средах с глюкозой и ее совместном добавлении с сахарозой отмечали энергичный рост растений-регенерантов с хорошо развитым главным побегом. Полученные данные согласуются с подобной реакцией регенерантов розы при культивировании на средах, содержащих глюкозу [28].

Регенеранты *C. coggugria* отличаются способностью к индукции ризогенеза на питательных средах даже без дополнительного введения ауксинов в состав среды. При стандартной концентрации сахарозы (30 г/л) был отмечен максимальный процент укорененных микропобегов, который составил 70 % (рисунок 2). При снижении концентрации сахарозы до 20 г/л этот показатель уменьшился в два раза (35 %), а при снижении сахарозы до 10 г/л – в семь раз (10 %). Средняя длина корня составила от 3,6 до 4,7 см. На средах с глюкозой показатели ризогенеза были немного меньше.

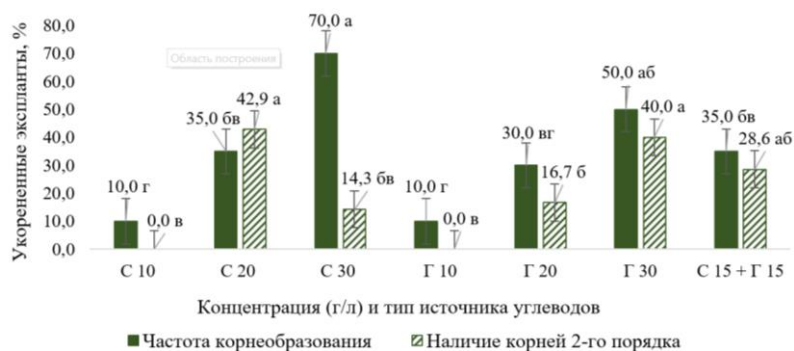


Рисунок 2 – Влияние разных типов и концентраций углеводного источника питания в составе среды MS на показатели ризогенеза *C. coggugria*

Примечание. С 10 – MS сахароза 10 г/л; С 20 – MS сахароза 20 г/л; С 30 – MS сахароза 30 г/л; Г 10 – MS глюкоза 10 г/л; Г 20 – MS глюкоза 20 г/л; Г 30 – MS глюкоза 30 г/л; С 15 + Г 15 – MS сахароза и глюкоза по 15 г/л. На гистограммах представлены средние значения ± ошибка среднего, различные буквы в столбце означают статистические различия согласно Tukey's HSD Post Hoc тесту при $p \leq 0,05$.

На питательных средах, содержащих 30 г/л глюкозы, и вариантах с глюкозой и сахарозой по 15 г/л процент укорененных побегов снижался на 20 и 35 % соответственно, но качественные характеристики, такие как толщина, наличие корневых волосков и корней второго порядка значительно возрастали, что увеличивало поглощающую способность регенерантов и доступность макро- и микроэлементов в составе среды (рисунок 3). Максимальная длина корня (5,4 см) и их количество (1,6) зафиксированы при совместном использовании глюкозы и сахарозы. Снижение концентрации сахарозы и глюкозы до 10 г/л не оказало положительного влияния на процессы ризогенеза, и частота корнеобразования в данных вариантах составила всего 10 %.

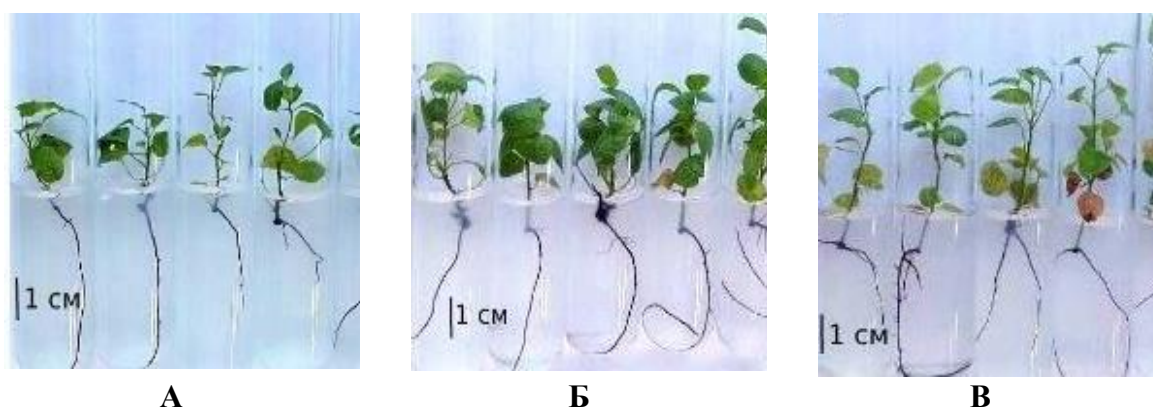


Рисунок 3 – Микропобеги *C. coggugria* на экспериментальных средах

Примечание. А – MS сахароза 30 г/л; Б – MS сахароза 15 г/л + глюкоза 15 г/л; В – MS глюкоза 30 г/л.

При изучении влияния различных концентраций сахарозы и глюкозы на фотосинтетические показатели отмечено, что содержание флавоноидов и антоцианов статистически значимо не различалось. Диапазон концентраций флавоноидов находился в пределах 0,25–0,33 мкг/см², а антоцианов – 0,09–0,14 мкг/см² (рисунок 4).

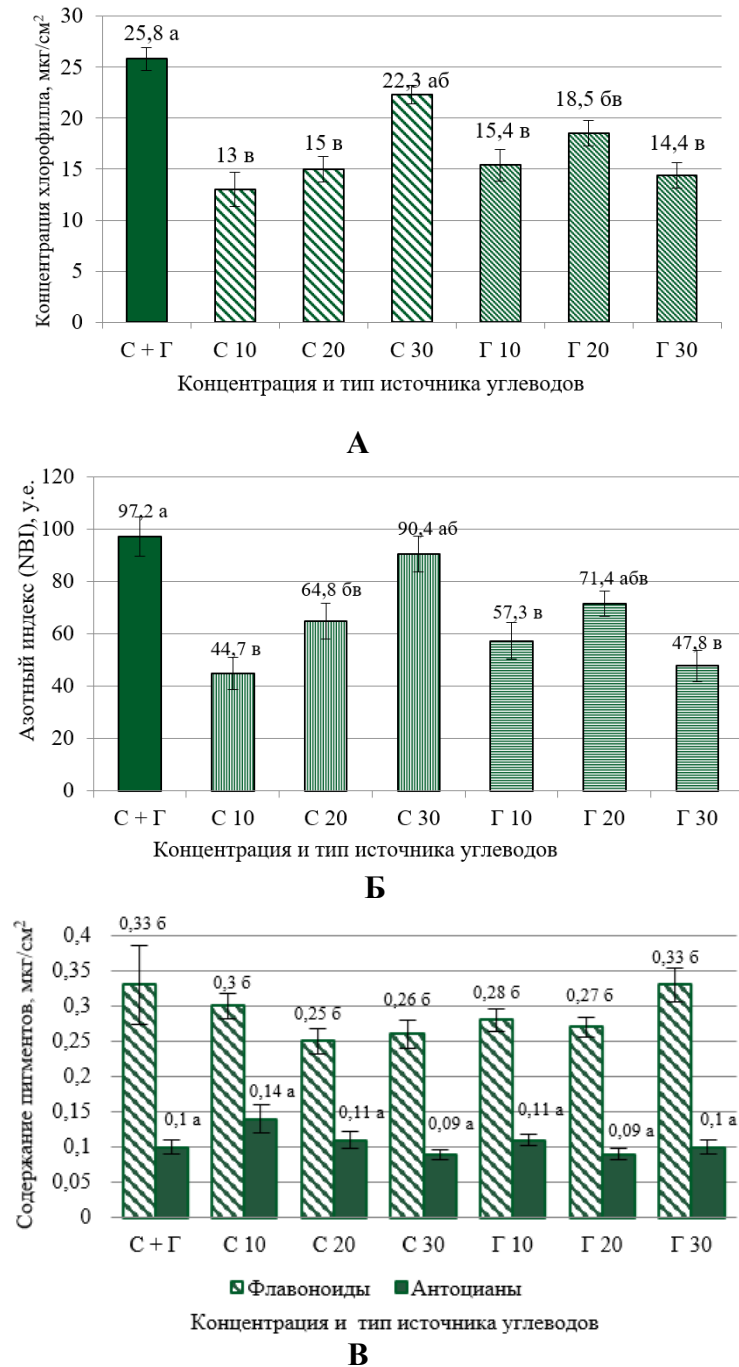


Рисунок 4 – Концентрация фотосинтетических пигментов в листьях микропобегов *C. coggyria* и значения NBI (индекса азотного баланса) в зависимости от концентрации источника углеводов

Примечание. А – общий хлорофилл, мкг/см², Б – азотный индекс (NBI), у.е., В – концентрация флавоноидов и антоцианов, мкг/см², С + Г – MS сахароза и глюкоза по 15 г/л; С 10 – MS сахароза, 10 г/л; С 20 – MS сахароза, 20 г/л; С 30 – MS сахароза, 30 г/л; Г 10 – MS глюкоза, 10 г/л; Г 20 – MS глюкоза, 20 г/л; Г 30 – MS глюкоза, 30 г/л. На гистограммах представлены средние значения ± ошибка среднего, различные буквы в столбце означают статистические различия согласно Tukey's HSD Post Hoc тесту при $p \leq 0,05$.

Хлорофилл, играющий фундаментальную роль в фотосинтезе, используется в качестве индикатора азотного статуса растений. Максимальные показатели (22,3 и 25,8 мкг/см²) отмечены на средах с сахарозой 30 г/л и ее совместном сочетании с глюкозой по 15 г/л. Диапазон значений индекса азотного баланса (NBI) для регенерантов *C. coggygia* составил 44,7–97,2 у.е. Максимальные значения индексов NBI – 97,2 и 90,4 у.е. получены при совместном добавлении глюкозы и сахарозы по 15 г/л и на питательной среде с сахарозой 30 г/л. Высокие значения концентрации хлорофилла на этих средах являются адаптивной реакцией, содержание большего количества пигментов в листьях указывает на их удовлетворительное физиологическое состояние [29].

Несмотря на то, что значительное количество исследователей отмечают положительное влияние 30 г/л сахарозы на пролиферацию побегов [30], в нашей работе замена сахарозы на глюкозу оказала стимулирующий эффект на морфологические показатели микропобегов *C. coggygia*, их энергичный рост и общую выравненность. При этом нельзя не отметить роль сахарозы как источника углеводов в работе фотосинтетического аппарата, максимальные значения были отмечены именно на высокой концентрации сахарозы (30 г/л) или в ее присутствии с глюкозой. На средах, содержащих в своем составе только глюкозу 30 г/л, индекс азотного баланса снижался на 50,8 %, как и концентрация общего хлорофилла уменьшалась на 44,2 % по сравнению с максимальными показателями.

Выводы

Впервые было проанализировано влияние источника углеводного питания и его концентрации на морфометрические показатели пролиферации микропобегов *Cotinus coggygia*, индукцию ризогенеза и концентрацию фотосинтетических пигментов в листовых пластинах культивируемых эксплантов.

Замена сахарозы на глюкозу оказала положительный эффект на длину и коэффициент размножения микропобегов *C. coggygia*. Все образцы отличались энергичным ростом и выровненными морфометрическими показателями. На средах, содержащих в своем составе сахарозу, были отмечены процессы хлороза, частичного увядания и некроза листовых пластин у первичного экспланта. Максимальные значения коэффициента размножения были достигнуты на среде с сахарозой и глюкозой, которые превышали контроль в 1,6 раза.

Несмотря на максимальные значения процента укорененных микропобегов на среде с 30 г/л сахарозы, количество корней второго порядка и корневых волосков были в 3 раза выше на средах с сахарозой (20 г/л), глюкозой (30 г/л) и совместном применении сахарозы и глюкозы по 15 г/л.

Анализ концентрации фотосинтетических пигментов и индекса азотного баланса в листовых пластинах эксплантов показал снижение концентрации хлорофилла в 1,8 раз и NBI в два раза на средах с глюкозой по сравнению с максимальным значением этих показателей при совместном применении сахарозы и глюкозы.

Таким образом, совместное применение сахарозы и глюкозы в равных долях по 15 г/л оказало стимулирующее действие на длину побега, коэффициент размножения и число корней второго порядка по сравнению с применением только сахарозы или глюкозы по отдельности. Поэтому для культивирования микропобегов *Cotinus coggygia* можно рекомендовать совместное использование двух типов углеводов сахарозы и глюкозы в качестве источника углеводного питания.

Работа выполнена в рамках государственного задания НИР ФНЦ агроэкологии РАН № 122020100427-1 «Разработать научные основы сохранения и воспроизводства ценных генотипов древесных и кустарниковых растений в культуре in vitro».

Литература

1. Sudheer W. N., Praveen N., Al-Khayri J. M., Jain S.M. Role of plant tissue culture medium components // In book: Advances in Plant Tissue Culture. Current Developments and Future Trends. Academic Press, Elsevier, 2022. P. 51–83. DOI: 10.1016/B978-0-323-90795-8.00012-6.
2. Ferreira W. M., Suzuki R. M., Pescador R., Figueiredo-Ribeiro, Kerbauy G.B. Propagation, growth, and carbohydrates of *Dendrobium* Second Love (Orchidaceae) *in vitro* as affected by sucrose, light, and dark // *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant* 2011. Vol. 47. P. 420–427. DOI: 10.1007/s11627-010-9311-x.
3. Mahadev M. N., Panathula C. S., Naidu C. V. Impact of different carbohydrates and their concentrations on *in vitro* regeneration of *Solanum viarum* (Dunal) – an important anticancer medicinal plant // *American Journal of Plant Sciences*. 2014. Vol. 5 No. 1. P. 200–204. DOI: 10.4236/ajps.2014.51026.
4. Ahmad T., Abbasi N. A., Hafiz I. A., Ali A. Comparison of sucrose and sorbitol as main carbon energy sources in micropropagation of peach rootstock GF-677 // *Pakistan Journal of Botany*. 2007. Vol. 39. No. 4. P. 1269–1275.
5. Phillips G. C., Garda M. Plant tissue culture media and practices: an overview // *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*. 2019. Vol. 55. P. 242–257. DOI: 10.1007/s11627-019-09983-5.
6. Pathak H., Dhawan V. Influence of different carbohydrate sources on *in vitro* shoot proliferation of apple (*Malus × domestica* Borkh.) rootstocks M 7 and MM 111 // *Acta Horticulturae*. 2012. Vol. 961. P. 311–317. DOI: 10.17660/ActaHortic.2012.961.41.
7. Муратова С. А., Папихин Р. В., Янковская М. Б. Влияние различных углеводов на регенерацию, размножение и рост растений *in vitro* // *Плодоводство и ягодоводство России*. 2012. Т. 31. № 2. С. 86–94. EDN OWEFXB.
8. Пузырнова В. Г., Дорошенко Н. П. Особенности применения углеводов для создания коллекции винограда *in vitro* // *Магарац. Виноградарство и виноделие*. 2023. Т. 25. № 1(123). С. 14–23. DOI: 10.34919/IM.2023.25.1.002. EDN IBNDBK.
9. Орлова Н. Д., Егорова Д. А. Изучение влияния типа углеводного питания на морфогенетический потенциал *Lonicera caerulea* L. в культуре *in vitro* // *Плодоводство и ягодоводство России*. 2020. Т. 61. С. 54–60. DOI: 10.31676/2073-4948-2020-61-54-60.
10. Ребров А. Н., Бондарева О. Н., Семенова Л. Н. Влияние концентрации сахарозы в питательной среде на морфогенез растений *in vitro* // *Плодоводство и виноградарство Юга России*. 2022. № 77(5). С. 121–136. DOI: 10.30679/2219-5335-2022-5-77-121-136.
11. Debnath S. C. Effects of carbon source and concentration on development of lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.) shoots cultivated *in vitro* from nodal explants // *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*. 2005. Vol. 41. P. 145–150. DOI: 10.1079/IVP2004590.
12. Дорошенко Н. П., Куприкова А. С., Пузырнова В. Г. Влияние сахарозы на замедление роста и сохранение растений винограда в коллекции *in vitro* // *Плодоводство и виноградарство Юга России*. 2017. № 46. С. 33–49.
13. Матушкина О. В., Пронина И. Н. Роль углеводов при клональном микроразмножении садовых растений // *Плодоводство и ягодоводство России*. 2018. Т. 54. С. 106–110. DOI: 10.31676/2073-4948-2018-54-106-110.
14. Черемисин А. И., Кумпан В. Н. Влияние состава питательной среды при микроразмножении сортов и гибридов картофеля // *Вестник Омского государственного аграрного университета*. 2017. № 4 (28). С. 87–91.
15. Чусова Н. С., Муратова С. А., Пугачева Г. М. Влияние различных концентраций сахарозы на эффективность микроразмножения картофеля *in vitro* // *Наука и Образование*. 2019. Т. 2. № 1.
16. Vasconcelos J. M., Saldanha C. W., Dias L. L., Maldaner J. et al. *In vitro* propagation of Brazilian ginseng [*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen] as affected by carbon sources // *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*. 2014. Vol. 50. P. 746–751. DOI: 10.1007/s11627-014-9651-z.
17. 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. DOI: 10.24411/0235-2451-2018-10915. EDN VKMRDG.
18. Соболева Е. В., Егорова Д. А., Молканова О. И. Особенности регенерации некоторых представителей рода *Rosa* L. в культуре *in vitro* // *Бюллетень Главного ботанического сада*. 2020. № 3. С. 44–48. DOI: 10.25791/BBGRAN.03.2020.1062.
19. Zavattieri A., Lima M., Sobral V., Oliveira P., Costa A. Effects of carbon source, carbon concentration and culture conditions on *in vitro* rooting of *Pinus pinea* L. microshoots // *Acta Horticulturae*. 2009. Vol. 812. P. 173–180. DOI: 10.17660/ActaHortic.2009.812.19.
20. da Silva J. A. T., Pacholczak A., Ilczuk A. Smoke tree (*Cotinus coggygria* Scop.) propagation and biotechnology: a mini-review // *South African Journal of Botany*. 2018. Vol. 114. P. 232–240. DOI: 10.1016/j.sajb.2017.11.009.
21. Shi K., Zheng C. X. Liquid culture system of rapid propagation of *Cotinus coggygria* ‘Royal Purple’ // *Plant Physiology Journal*. 2015. Vol. 51(4). P. 553–558. DOI: 10.13592/j.cnki.ppj.2015.0015.

22. Чепурной В. С., Максимцов Д. В. Практическая агролесомелиорация. Методические указания по изучению эколого-биологических особенностей и морфологических признаков древесных видов для защитного лесоразведения. 2016. С. 86–88.
23. Бутенко Р. Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе. М.: ФБК-Пресс, 1999. 160 с.
24. Lembrechts R., Verdoodt V., De Proft M. P., Ceusters J. Influence of sucrose concentration on photosynthetic performance of *Guzmania* 'Hilda' *in vitro* // *Acta Horticulturae*. 2015. Vol. 1083. P. 403–408. DOI: 10.17660/ActaHortic.2015.1083.51.
25. Поух Е. В., Кобринец Т. П., Иванова О. С. Методические рекомендации по режимам освещения при выращивании сливы домашней на этапах микроразмножения, укоренения *in vitro* и адаптации *ex vitro* // *Плодоводство*. 2022. Т. 34(1). С. 178–187. DOI: 10.47612/0134-9759-2022-34-178-187.
26. Плаксина Т. В., Ворохобова Л. С., Бородулина И. Д. Особенности клонального микроразмножения малины красной (*Rubus idaeus* L.) алтайской селекции // *Садоводство и виноградарство*. 2017. № 5. С. 39–43. DOI: 10.18454/VSTISP.2017.5.7589. EDN ZPEXYD.
27. Орлова Н. Д., Раева-Богословская Е. Н., Молканова О. И. Совершенствование методики клонального микроразмножения перспективных сортов *Lonicera caerulea* L. // *Лесной вестник*. 2022. Т. 26. № 3. С. 85–92. DOI: 10.18698/2542-1468-2022-3-85-92.
28. Чеснокова О. В., Чурикова О. А. Влияние различных углеводов на реализацию регенерационного потенциала розы сорта 'maiden's Blush' при размножении *in vitro* // *Научное обеспечение устойчивого развития плововодства и декоративного садоводства. Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 125-летию ВНИИЦиСК и 85-летию Ботанического сада "Дерево Дружбы"*. 2019. С. 415–420. EDN WYKOKJ.
29. Turbina I. N., Kukurichkin G. M. Adaptation possibilities of introduced plants of various origin in conditions of botanical garden at Surgut State University // *Bulletin of Nizhnevartovsk State University*. 2020. No. 2. P. 60–67. DOI: 10.36906/2311-4444/20-2/08.
30. Perez-Jimenez M., Carrillo-Navarro A., Cos-Terrer J. Regeneration of peach (*Prunus persica* L. Batsch) cultivars and *Prunus persica* × *Prunus dulcis* rootstocks via organogenesis // *Plant Cell Tissue and Organ Culture (PCTOC)*. 2012. Vol. 108(1) P. 55–62. DOI: 10.1007/s11240-011-0011-y.

References

1. Sudheer W. N., Praveen N., Al-Khayri J. M., Jain S.M. Role of plant tissue culture medium components // In book: *Advances in Plant Tissue Culture. Current Developments and Future Trends*. Academic Press, Elsevier, 2022. P. 51–83. DOI: 10.1016/B978-0-323-90795-8.00012-6.
2. Ferreira W. M., Suzuki R. M., Pescador R., Figueiredo-Ribeiro, Kerbauy G.B. Propagation, growth, and carbohydrates of *Dendrobium* Second Love (Orchidaceae) *in vitro* as affected by sucrose, light, and dark // *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*. 2011. Vol. 47. P. 420–427. DOI: 10.1007/s11627-010-9311-x.
3. Mahadev M. D. N., Panathula C. S., Naidu C. V. Impact of different carbohydrates and their concentrations on *in vitro* regeneration of *Solanum viarum* (Dunal) – an important anticancer medicinal plant // *American Journal of Plant Sciences*. 2014. Vol. 5 No. 1. P. 200–204. DOI: 10.4236/ajps.2014.51026.
4. Ahmad T., Abbasi N. A., Hafiz I. A., Ali A. Comparison of sucrose and sorbitol as main carbon energy sources in micropropagation of peach rootstock GF-677 // *Pakistan Journal of Botany*. 2007. Vol. 39. No. 4. P. 1269–1275.
5. Phillips G. C., Garda M. Plant tissue culture media and practices: an overview // *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*. 2019. Vol. 55. P. 242–257. DOI: 10.1007/s11627-019-09983-5.
6. Pathak H., Dhawan V. Influence of different carbohydrate sources on *in vitro* shoot proliferation of apple (*Malus* × *domestica* Borkh.) rootstocks M 7 and MM 111 // *Acta Horticulturae*. 2012. Vol. 961. P. 311–317. DOI: 10.17660/ActaHortic.2012.961.41.
7. Muratova S. A., Papikhin R. V., Yankovskaya M. B. The influence of various carbohydrates on the regeneration, reproduction and growth of plants *in vitro* // *Pomiculture and small fruits culture in Russia*. 2012. Vol. 31. No. 2. P. 86–94. EDN OWEFXB.
8. Puzirnova V. G., Doroshenko N. P. Application features of using carbohydrates to create a collection of grapes *in vitro* // *Magarach. Viticulture and Winemaking*. 2023. Vol. 25(1). P. 14–23. DOI: 10.34919/IM.2023.25.1.002.
9. Orlova N. D., Egorova D. A. Research of carbohydrate type influence on *Lonicera caerulea* L. morphogenetic potential *in vitro* // *Pomiculture and small fruits culture in Russia*. 2020. Vol. 61. P. 54–60. DOI: 10.31676/2073-4948-2020-61-54-60.
10. Rebrov A. N., Bondareva O. N., Semenova L.N. Influence of sucrose concentration in nutrient medium on *in vitro* plant morphogenesis // *Fruit growing and viticulture of South Russia*. 2022. No. 77(5). P. 121–136. DOI: 10.30679/2219-5335-2022-5-77-121-136.
11. Debnath S. C. Effects of carbon source and concentration on development of lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.) shoots cultivated *in vitro* from nodal explants // *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*. 2005. Vol. 41. P. 145–150. DOI: 10.1079/IVP2004590.

12. Doroshenko N. P., Kuprikova A. S., Puzyrnova V.G. Effect of sucrose on retardation of growth and preservation of grape plants in the collection *in vitro* // Fruit growing and viticulture of South Russia. 2017. No. 46 (04). P. 33–49.
13. Matushkina O. V., Pronina I. N. The role of carbohydrates in clonal micropropagation of horticultural plants // Pomiculture and small fruits culture in Russia. 2018. Vol. 54. P. 106–110. DOI: 10.31676/2073-4948-2018-54-106-110.
14. Cheremisin A. I., Kumpan V. N. The impact of nutrient medium under microclonal reproduction of potato varieties and hybrids // Vestnik of Omsk SAU. 2017. No. 4 (28). P. 87–91.
15. Chusova N. S., Muratova S. A., Pugacheva G. M. The influence of different concentrations of sucrose on the efficiency of micropropagation of potatoes *in vitro* // Nauka i Obrazovanie. 2019. Vol. 2. No. 1.
16. Vasconcelos J. M., Saldanha C. W., Dias L. L., Maldaner J., Rego M. M., Silva L. C., Otoni W. C. *In vitro* propagation of Brazilian ginseng [*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen] as affected by carbon sources // *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*. 2014. Vol. 50. P. 746–751. DOI: 10.1007/s11627-014-9651-z.
17. Molkanova O. I., Koroleva O. V., Stakheeva T. S., Krakhmaleva I. L., Meleshchuk E. A. Improvement of clonal micropropagation technology of valuable fruit and berry crops varieties for commercial conditions // Achievements of Science and Technology of AIC. 2018. Vol. 32. No. 9. P. 66–69. DOI: 10.24411/0235-2451-2018-10915.
18. Soboleva E. V., Egorova D. A., Molkanova O. I. Regeneration features of some varieties of *Rosa* L. genus representatives *in vitro* // Bulletin Main Botanical Garden. 2020. No. 3. P. 44–48. DOI: 10.25791/BBGRAN.03.2020.1062.
19. Zavattieri A., Lima M., Sobral V., Oliveira P., Costa A. Effects of carbon source, carbon concentration and culture conditions on *in vitro* rooting of *Pinus pinea* L. microshoots // *Acta Horticulturae*. 2009. Vol. 812. P. 173–180. DOI: 10.17660/ActaHortic.2009.812.19.
20. da Silva J. A. T., Pacholczak A., Ilczuk A. Smoke tree (*Cotinus coggygria* Scop.) propagation and biotechnology: a mini-review // *South African Journal of Botany*. 2018. Vol. 114. P. 232–240. DOI: 10.1016/j.sajb.2017.11.009.
21. Shi K., Zheng C. X. Liquid culture system of rapid propagation of *Cotinus coggygria* ‘Royal Purple’ // *Plant Physiology Journal*. 2015. Vol. 51(4). P. 553–558. DOI: 10.13592/j.cnki.ppj.2015.0015.
22. Chepurnoy V. S., Maksimov D. V. Practical agroforestry. Guidelines for the study of ecological and biological characteristics and morphological characteristics of tree species for protective afforestation. 2016. P. 86–88.
23. Butenko R. G. Biology of cells of higher plants *in vitro* and biotechnology based on them. Moscow: FBK-Press. 1999. 160 p.
24. Lembrechts R., Verdoodt V., De Proft M. P., Ceusters J. Influence of sucrose concentration on photosynthetic performance of *Guzmania* ‘Hilda’ *in vitro* // *Acta Horticulturae*. 2015. Vol. 1083. P. 403–408. DOI: 10.17660/ActaHortic.2015.1083.51.
25. Poukh A. V., Kobrinets T. P., Ivanova O. S. Methodological recommendations for lighting modes for domestic plum growing at the stages of micro-propagation, *in vitro* rooting and *ex vitro* adaptation // *Fruit Growing*. 2022. Vol. 34(1). P. 178–187. DOI: 10.47612/0134-9759-2022-34-178-187.
26. Plaksina T. V., Vorokhobova L. S., Borodulina I. D. Peculiarities of clonal micropropagation of red raspberry (*Rubus idaeus* L.) of Altai breeding. // *Horticulture and viticulture*. 2017. No 5. P. 39-43. DOI: 10.18454/VSTISP.2017.5.7589.
27. Orlova N. D., Raeva-Bogoslovskaya E. N., Molkanova O. I. Clonal micropropagation improvement technique of *Lonicera caerulea* L. promising cultivars // *Forestry Bulletin*. 2022. Vol. 26. No 3. P. 85–92. DOI: 10.18698/2542-1468-2022-3-85-92.
28. Chesnokova O. V., Churikova O. A. Influence of different carbohydrates on realization of regenerative potential in rose cultivar ‘Maiden's Blush’ during propagation *in vitro* // The collection of scientific works contains materials from the International scientific and practical conference “Scientific Support for Sustainable Development of Fruit Growing and Ornamental Gardening”, dedicated to the 125th anniversary of the foundation of the Russian Research Institute of Floriculture and Subtropical Crops and to the 85th anniversary of the Foundation of the Botanical Garden “The Tree of Friendship”. Sochi: Russian Research Institute of Floriculture and Subtropical Crops, 2019. P. 415–420. EDN: WYKOKJ.
29. Turbina I. N., Kukurichkin G. M. Adaptation possibilities of introduced plants of various origin in conditions of botanical garden at Surgut State University // *Bulletin of Nizhnevartovsk State University*. 2020. No. 2. P. 60–67. DOI: 10.36906/2311-4444/20-2/08.
30. Perez-Jimenez M., Carrillo-Navarro A., Cos-Terrer J. Regeneration of peach (*Prunus persica* L. Batsch) cultivars and *Prunus persica* × *Prunus dulcis* rootstocks via organogenesis // *Plant Cell Tissue and Organ Culture (PCTOC)*. 2012. Vol. 108(1) P. 55–62. DOI: 10.1007/s11240-011-0011-y.

UDC 631.532:581.143.6

Zholobova O. O., Tereschenko T. V.

OPTIMIZATION OF THE CARBOHYDRATE COMPOSITION OF THE NUTRIENT MEDIUM FOR MICROCLONAL PROPAGATION OF *COTINUS COGGUGRIA* SCOP.

Summary. *One of the factors influencing the processes of hemorrhizogenesis in in vitro culture is the choice of the source of carbohydrate nutrition and its concentration in the nutrient medium. To develop an effective protocol for micropropagation of Cotinus coggygia, it is necessary to take into account the role of individual components at all stages of in vitro cultivation. The purpose of the research was to evaluate the effect of various carbohydrate sources and their concentrations on the morphogenetic potential and rhizogenesis of microshoots of Cotinus coggygia in vitro, as well as to optimize in vitro cultivation. Murashige and Skoog medium without the addition of hormones was used as the basic nutrient medium (control); the sources of carbohydrate nutrition were sucrose and glucose at concentrations of 10, 20, 30 g/l and their combination (15 g/l each). At the end of the cultivation period, the following morphological indicators were assessed: shoot length, multiplication factor, rhizogenesis indicators (frequency of root formation, number of roots of the 1st and 2nd order and their length). We analyzed the concentration of photosynthetic hormones in the leaf blades of explants and the values of the nitrogen balance index (NBI). As a result, replacing sucrose with glucose had a positive effect on the length and multiplication factor of C. coggygia microshoots. All samples were characterized by vigorous growth and similar morphometric indicators. Cultivation of C. coggygia on a medium containing 30 g/l sucrose resulted in the maximum percentage of rooted microshoots (70 %). On nutrient media containing 30 g/l glucose and in the variant with 15 g/l of glucose + 15 g/l of sucrose, the percentage of rooted shoots decreased by 20 and 35 %, respectively, but qualitative characteristics: thickness, presence of root hairs and second-order roots increased significantly. The maximum values of chlorophyll concentration and NBI in leaf blades were observed on media containing 30 g/l of sucrose and 15 g/l of glucose + 15 g/l of sucrose. Thus, the combined use of sucrose and glucose in the culture medium in equal proportions (15 g/l each) had a stimulating effect on shoot length, multiplication factor and presence of second-order roots compared to the medium containing either sucrose or glucose separately.*

Keywords: *Cotinus coggygia Scop., in vitro culture, sucrose, glucose, multiplication factor, induction of rhizogenesis, chlorophyll, NBI.*

Жолобова Ольга Олеговна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник – заведующий лабораторией биотехнологий селекционно-семеноводческого центра по древесным и кустарниковым породам, ФГБНУ «Федеральный научный центр агроэкологии, комплексных мелиораций и защитного лесоразведения Российской академии наук»; 400062, Россия, г. Волгоград, проспект Университетский, 97; e-mail: zholobova-o@vfanc.ru.

Терещенко Татьяна Васильевна, аспирант, младший научный сотрудник лаборатории биотехнологий селекционно-семеноводческого центра по древесным и кустарниковым породам, ФГБНУ «Федеральный научный центр агроэкологии, комплексных мелиораций и защитного лесоразведения Российской академии наук»; 400062, Россия, г. Волгоград, проспект Университетский, 97; e-mail: tereschenko@vfanc.ru.

Zholobova Olga Olegovna, Cand. Sc. (Biol.), leading researcher – head of the Biotechnology Laboratory for Tree and Shrub Species of the Breeding and Seed-Growing Center of the Federal State Budgetary Institution “Federal Scientific Center of Agroecology, Complex Melioration and Protective Afforestation of the Russian Academy of Sciences”; 97, Universitetskiy Prospekt, Volgograd, 400062, Russia; e-mail: zholobova-o@vfanc.ru.

Tereschenko Tatiana Vasilyevna, post graduate student, junior researcher of the Biotechnology Laboratory for Tree and Shrub Species of the Breeding and Seed-Growing Center of the Federal State Budgetary Institution “Federal Scientific Center of Agroecology, Complex Melioration and Protective Afforestation of the Russian Academy of Sciences”; 97, Universitetskiy Prospekt, Volgograd, 400062, Russia; e-mail: tereschenko@vfanc.ru.

*Дата поступления в редакцию – 06.10.2023.
Дата принятия к печати – 08.11.2023.*