

УДК 57.085.23:582.998

DOI: 10.36305/0513-1634-2022-144-95-104

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАЗМНОЖЕНИЯ СОМАКЛОНАЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ *ECHINACEA* × *HYBRIDA* HORT.

Ирина Леонидовна Крахмалева, Ольга Ивановна Молканова

Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина Российской академии наук,
127276, Россия, г. Москва, Ботаническая ул., 4
E-mail: seglory@bk.ru, molkanova@mail.ru

В результате исследования выявлены особенности размножения *in vitro* *Echinacea* × *hybrida* hort. сорта 'Mama Mia' и его соматоклональных вариантов с разной окраской листьев. Определены оптимальные условия органогенеза на основных этапах клонального микроразмножения. Показано, что размер исходного экспланта оказывал существенное влияние на рост и развитие микророзеток эхинацеи. Сорт 'Mama Mia' характеризовался наибольшим морфогенетическим потенциалом среди исследуемых генотипов. На этапе микроразмножения использование питательной среды Мурасиге-Скуга (МС), содержащей 0,2 мг/л 6-бензиламинопурина (6-БАП) являлось оптимальным для сортов 'Mama Mia' и 'Пеструшка', 0,1 мг/л 6-БАП – для других соматоклонов. На этапе укоренения, применение среды, содержащей ½ часть минерального состава по МС с 0,3 мг/л 3-индолилуксусной кислоты (ИУК) было эффективным для формирования корневой системы эхинацеи. Установлено, что адаптацию сортов 'Mama Mia' и 'Пеструшка' оптимально осуществлять на субстрате, состоящем из торфа и вермикулита, приживаемость регенерантов при этом составила 100% и 83%.

Ключевые слова: *Echinacea* × *hybrida* hort.; клональное микроразмножение; соматоклональная изменчивость; регенерационный потенциал; ризогенез; адаптация

Введение

Род Эхинацея (*Echinacea* Moench.) относится к семейству Астровые (*Asteraceae*) и включает в себя 9 видов многолетних травянистых растений с прямостоячим стеблем достигающим высоты до 1,5 м, характеризующихся продолжительным периодом цветения, нетребовательностью к условиям произрастания, засухоустойчивостью и высокой зимостойкостью [8, 19]. Эхинацея представляет большой интерес как декоративное растение, которое эффектно смотрится как в монокультуре, так и в сочетании с другими растениями. В фармакологии и народной медицине наиболее широкое применение получили 3 вида: *Echinacea purpurea* (L.) Moench, *Echinacea angustifolia* DC. и *Echinacea pallida* (Nutt.) Nutt., которые являются эффективными источниками лекарственного сырья [8, 17].

Селекционная работа по созданию новых декоративных сортов эхинацеи в основном проводится за рубежом. На основе скрещивания разных видов выведены сорта и гибриды с крупными махровыми и немахровыми соцветиями, разнообразной окраской от малиновой до зеленовато-кремовой, пестрыми листьями и различной высотой. На данный момент насчитывается более 200 сортов и гибридов эхинацеи [12].

Использование биотехнологических методов является обоснованным и эффективным для размножения и сохранения уникальных генотипов растений. В процессе культивирования *in vitro* растительных клеток и тканей могут возникать неконтролируемые и случайные спонтанные изменения. Соматические изменения могут иметь генетическую и эпигенетическую природу. Частота спонтанных мутаций при этом варьирует в зависимости от таксона в пределах 10^{-5} - 10^{-8} и увеличивается при использовании не прямой регенерации растений с промежуточной стадией каллусообразования [9]. Проявление соматоклональной изменчивости увеличивает

генетическое разнообразие и тем самым способствует выведению новых сортов. В тоже время новые характеристики у соматоклонов могут не передаваться последующим поколениям или иметь незначительное практическое применение в селекционной работе [5].

Проведены исследования по выявлению и причинам возникновения соматоклональной изменчивости большого количества таксонов, включая *Echinacea purpurea*, в которых использовали различные методы: морфологические, цитологические, биохимические и молекулярные [11].

При культивировании *in vitro* представителей рода *Echinacea* (более 3 лет) у гибрида (*Echinacea paradoxa* (J.B.S. Norton) Britton × *Echinacea purpurea* Ruby Giant) сорта 'Мама Миа' были выделены соматоклональные варианты с разной окраской листьев: вариегатной (№ 1 – зарегистрирован в 2021 г. как сорт 'Пеструшка'), желтой (№ 2) и желтой с зеленой каймой по краю листа (№ 3). Поскольку особенности регенерации и реализации морфогенетического потенциала эхинацеи гибридной с подобной окраской листьев в культуре *in vitro* не были изучены ранее, целью данного исследования было выявление особенностей размножения сорта 'Мама Миа' и его соматоклональных вариантов, а также определение оптимальных условий органогенеза на основных этапах клонального микроразмножения.

Объекты и методы исследований

Исследования проводили в лаборатории биотехнологии растений в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Главном ботаническом саду им. Н.В. Цицина Российской академии наук (ГБС РАН). В качестве объектов исследования использовали эхинацею гибридную сорта 'Мама Миа' и 'Пеструшка', соматоклональные варианты № 2 и № 3.

Работу с культурой изолированных тканей и органов растений *in vitro* осуществляли согласно общепринятым методам и приемам, разработанным в лаборатории биотехнологии растений ГБС РАН [1, 6].

В качестве первичных эксплантов использовали меристемы из почек возобновления исходных растений. В процессе культивирования пучки микророзеток разделяли на единичные и использовали их в качестве эксплантов. Микроразмножение осуществляли на питательной среде Мурасиге-Скуга (МС) (1962) с добавлением 6-бензиламинопурина (6-БАП) в концентрации 0,1-0,2 мг/л. Через 25 дней культивирования подсчитывали число микророзеток и измеряли их высоту. В качестве контроля использовали питательную среду МС без добавления регуляторов роста [15].

Укоренение проводили на питательной среде МС, содержащей ½ часть от общего минерального состава (½ МС), дополненной 3-индолилуксусной кислотой (ИУК) в концентрации 0,3 и 0,5 мг/л. Через 14 дней культивирования учитывали развитие корневой системы (число корней и их длину), подсчитывали число укоренившихся микророзеток и на основе этого рассчитывали процент укоренения. В качестве контроля использовали питательную среду ½ МС без добавления ауксинов.

Регенеранты в условиях лаборатории культивировали при освещении 1500-2000 лк, 16-часовом фотопериоде и температуре 21-24°C. Все исследования проводили в трех повторностях, 10 эксплантов в каждом варианте.

Адаптацию регенерантов осуществляли на почвенном субстрате, состоящем из торфа (рН 5,5-6,5) и мха сфагнома с добавлением песка, перлита или вермикулита в соотношении 3:1. В качестве контроля использовали торф. Через 4 недели подсчитывали приживаемость регенерантов.

Для обработки данных использовали программное обеспечение Microsoft Office 2010 (Microsoft Office Excel) и PAST 2.17c [13]. В данном исследовании был проведен

двухфакторный дисперсионный анализ для выявления доли влияния факторов на морфометрические показатели исследуемых объектов [2]. HCp_{05} показывает наименьшую существенную разницу при 5%-ном уровне значимости.

Результаты и обсуждение исследований

Особенности клонального микроразмножения тесно связаны с биологическими особенностями исходных растений. При разработке методики клонального микроразмножения необходимо учитывать генотип растений, состав питательной среды, размер экспланта и условия культивирования [6, 7].

В процессе исследования выявлено, что размер исходного экспланта оказывал существенное влияние на рост и развитие микророзеток сортов 'Мама Миа' и 'Пеструшка' (табл. 1).

Таблица 1

Влияние размера исходного экспланта на морфометрические параметры *Echinacea* × *hybrida hort.* на питательной среде МС с добавлением 0,2 мг/л 6-БАП

Сорт	Исходный размер экспланта, см	Высота микророзеток, см	Число микророзеток, шт.
'Мама Миа'	0,5-1,3	1,18±0,03	8,0±0,2
	1,4-2,2	1,54±0,03	7,8±0,4
	2,3-3,0	1,65±0,05	7,4±0,3
'Пеструшка'	0,5-1,3	1,26±0,03	6,0±0,2
	1,4-2,2	1,32±0,03	6,1±0,3
	2,3-3,0	1,80±0,08	5,2±0,3

Так, с увеличением размера экспланта у исследуемых объектов уменьшалось число микророзеток: у сорта 'Мама Миа' с 8,0±0,2 до 7,4±0,3 шт., 'Пеструшка' с 6,0±0,2 до 5,2±0,3 шт. Культивирование эксплантов большего размера способствовало увеличению высоты образовавшихся микророзеток в 1,4 раза.

Установлено, что на этапе микроразмножения сорта 'Мама Миа' эффективно использовать микророзетки высотой от 1,4 до 3,0 см, которые характеризуются большой регенерационной способностью (число микророзеток 7,8±0,4 шт. и 7,4±0,3 шт.) и высотой (1,54±0,03 см и 1,65±0,05 см). У сорта 'Пеструшка' оптимальные значения наблюдали при культивировании эксплантов размером от 1,4 до 2,2 см (число микророзеток 6,1±0,3 шт. и высота 1,32±0,03 см) по сравнению с другими исследуемыми вариантами.

На этапе микроразмножения были установлены различия в морфогенетическом потенциале исходного сорта 'Мама Миа' и его соматоклонов (рис. 2, 3).

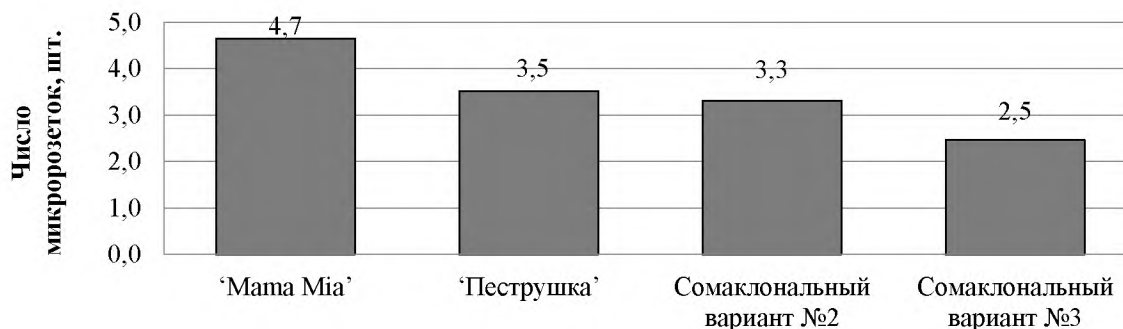


Рис. 2 Количество микророзеток *Echinacea* × *hybrida hort.* в зависимости от генотипа (HCp_{05} 0,4)

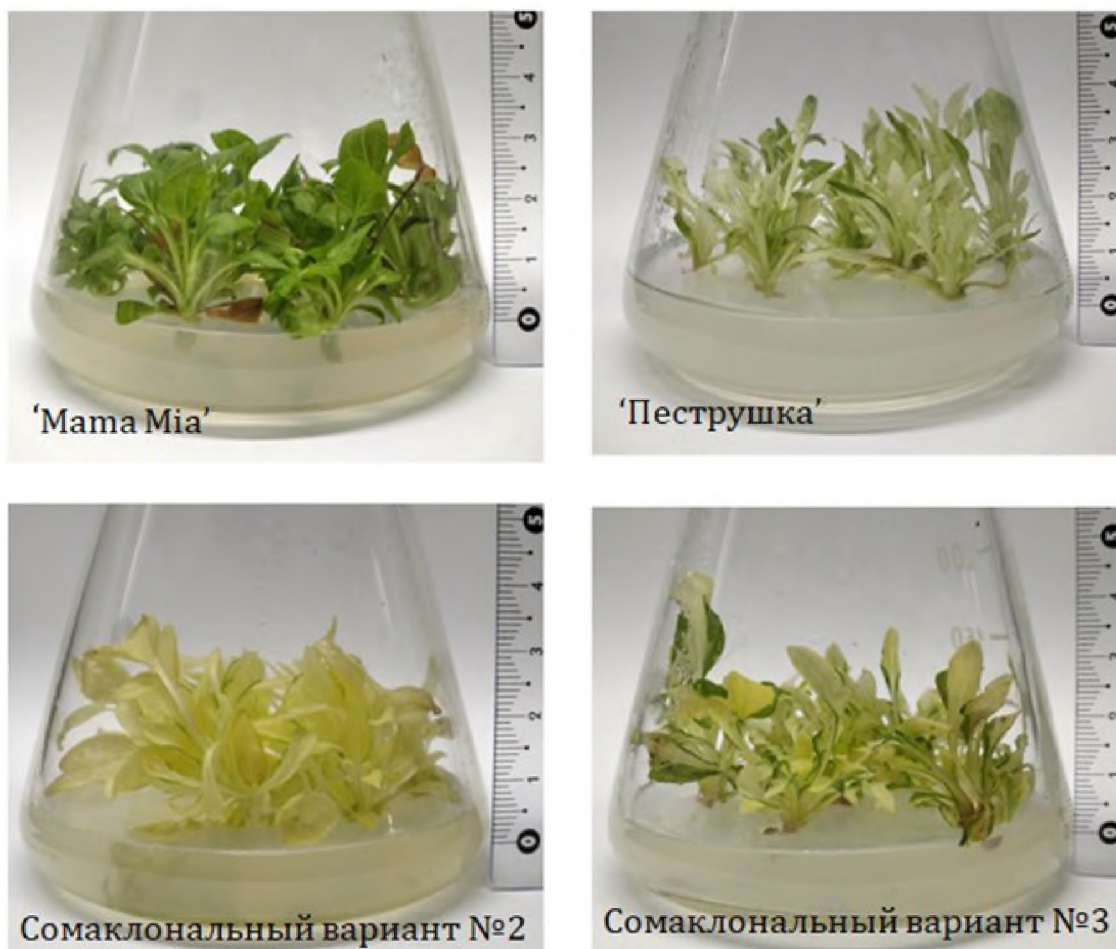


Рис. 3 *Echinacea* × *hybrida* сорт 'Мама Миа' и его соматоналы на этапе микроразмножения на среде МС с добавлением 0,1 мг/л 6-БАП

Сорт 'Мама Миа' характеризовался большим морфогенетическим потенциалом (число микророзеток 4,7 шт.) при сравнении с соматонами. Наименьшее число микророзеток наблюдали у соматонального варианта № 3 (2,5 шт.). У сорта 'Пеструшка' и соматона № 2 в коэффициенте размножения различий обнаружено не было (3,5 и 3,3 шт., соответственно) (рис. 3).

Большинство исследователей при культивировании разных видов эхинацеи использовали питательную среду МС. Чтобы добиться увеличения коэффициента размножения в состав питательной среды добавляли различные регуляторы роста, такие как 6-БАП, тидиазурон и кинетин, а также их комбинации с ауксинами 3-индолилуксусной и α -нафталинуксусной кислотами [10, 14, 18].

В нашем исследовании у сорта 'Мама Миа' и его соматонов на питательных средах с добавлением 6-БАП в концентрациях 0,0-0,2 мг/л выявлены существенные различия в регенерационном потенциале (табл. 2).

Таблица 2

Влияние концентрации 6-БАП на морфометрические параметры *Echinacea* × *hybrida hort.* на этапе микроразмножения

Генотип	Концентрация 6-БАП, мг/л	Высота микророзеток, см	Число микророзеток, шт.
'Мама Миа'	0,0 (контроль)	2,3	1,8
	0,1	1,7	5,4
	0,2	1,6	6,7
'Пеструшка'	0,0 (контроль)	2,9	1,2
	0,1	1,9	4,0
	0,2	1,5	5,3
Соматоклональный вариант №2	0,0 (контроль)	2,4	1,4
	0,1	1,9	4,4
	0,2	1,7	4,0
Соматоклональный вариант №3	0,0 (контроль)	2,2	1,6
	0,1	1,7	3,2
	0,2	1,5	2,6
НСР ₀₅	-	0,4	1,2

Культивирование эхинацеи на питательной среде без добавления регуляторов роста способствовало вытягиванию микророзеток у всех исследуемых образцов. Уменьшение высоты микророзеток при увеличении концентрации 6-БАП от 0,1 до 0,2 мг/л наблюдали только у сорта 'Пеструшка' – с 1,9 до 1,5 см, у других исследуемых объектов достоверных различий обнаружено не было.

Положительное влияние на число образовавшихся микророзеток при увеличении концентрации 6-БАП до 0,2 мг/л отмечено у сорта 'Мама Миа' (6,7 шт.) и 'Пеструшка' (5,3 шт.). У соматоклонального варианта № 2 и № 3 максимальный коэффициент был получен при меньшей концентрации 6-БАП – 0,1 мг/л (4,4 шт. и 3,2 шт., соответственно), при увеличении концентрации до 0,2 мг/л 6-БАП наблюдали формирование микророзеток с деформированными листовыми пластинками, что в дальнейшем снижало их способность к размножению.

На этапе микроразмножения у сорта 'Мама Миа' и 'Пеструшка' на питательной среде без добавления 6-БАП наблюдали спонтанный ризогенез (40% и 20% укоренившихся микророзеток). При этом наибольшая длина корней была отмечена у сорта 'Пеструшка' ($2,6 \pm 0,2$ см) по сравнению с 'Мама Миа' ($1,3 \pm 0,2$ см), а по числу корней различий не наблюдали ($1,6 \pm 0,2$ шт. и $1,4 \pm 0,2$ шт.). При более длительном культивировании (60 суток) у большинства эксплантов наблюдали образование корней.

На этапе укоренения основной задачей является формирование развитой корневой системы у регенерантов для дальнейшей высадки в почвенный субстрат и успешной адаптации в условиях *ex vitro*. Поэтому большое значение на данном этапе имеет выбор состава питательной среды. Исследователи для индукции корнеобразования у видов эхинацеи применяли различные типы ауксинов (индолилуксусную кислоту (ИУК) и индолил-3-масляную кислоту (ИМК)) и их концентрации [10]. Lakshmanan с соавторами (2002) установил, что укоренение *Echinacea angustifolia*, *Echinacea pallida*, *Echinacea paradoxa* и *Echinacea purpurea* успешно происходило при культивировании на безгормональной среде МС, что также подтверждается данными других авторов [14, 16].

Нами выявлено, что на этапе укоренения регенерантов сортов 'Мама Миа' и 'Пеструшка' ризогенез наблюдали уже через 10-12 суток. Применение исследуемых вариантов сред стимулировало образование корней, но на питательной среде с добавлением ИУК частота их формирования была наибольшей по сравнению с

контролем. У соматоклонального варианта № 2 отмечено образование единичных корней, а микророзетки № 3 не укоренились ни на одном из вариантов исследуемых питательных сред. Поэтому дальнейшие исследования проводили только на сортах 'Мама Миа' и 'Пеструшка' (табл. 3).

Таблица 3

Влияние концентрации ИУК на развитие корневой системы *Echinacea × hybrida hort.*

Генотип	Концентрация ИУК, мг/л	Укореняемость, %	Число корней, шт.	Длина корней, см
'Мама Миа'	0,0 (контроль)	27	1,21±0,15	0,77±0,05
	0,3	67	1,25±0,09	0,71±0,05
	0,5	61	1,28±0,08	0,74±0,03
'Пеструшка'	0,0 (контроль)	47	1,21±0,11	0,55±0,09
	0,3	87	5,08±0,42	1,40±0,03
	0,5	89	3,05±0,39	0,96±0,04
Соматоклональный вариант №2	0,0 (контроль)	3	1,00±0,00	0,55±0,25
	0,3	7	1,00±0,00	1,00±0,00
	0,5	0	-	-
Соматоклональный вариант №3	0,0 (контроль)	0	-	-
	0,3	0	-	-
	0,5	0	-	-

При этом сорт 'Пеструшка' характеризовался развитой корневой системой с антоциановой окраской, а корни сорта 'Мама Миа' были светло-зелеными и имели больший диаметр (рис. 4).

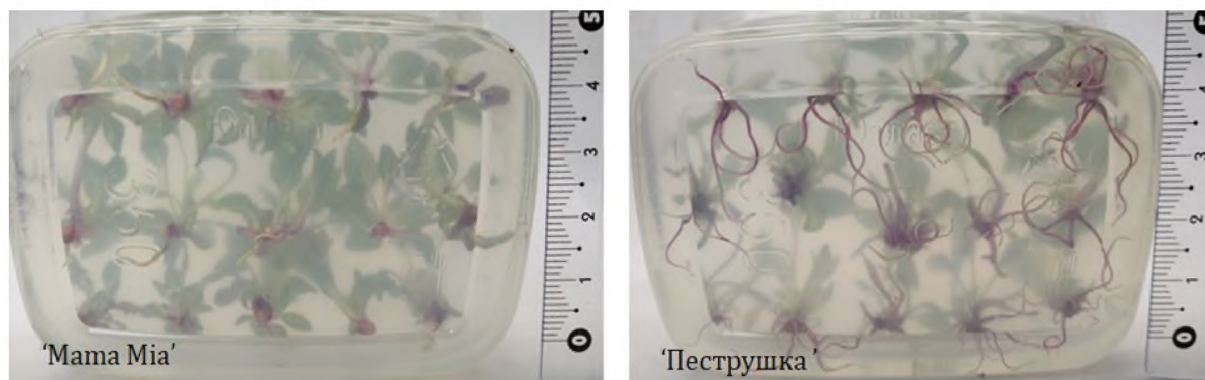


Рис. 4 Укоренение *Echinacea × hybrida hort.* сортов 'Мама Миа' и 'Пеструшка' на питательной среде ½ МС с добавлением 0,3 мг/л ИУК

Анализ данных показал, что укоренение микророзеток эхинацеи на питательной среде ½ МС с добавлением ИУК в меньшей концентрации (0,3 мг/л) является оптимальным для развития корневой системы исследуемых сортов. Подобные результаты были получены ранее при исследовании разных типов и концентраций ауксинов [4].

Адаптация микрорастений к условиям *ex vitro* является заключительным этапом клонального микроразмножения. Согласно данным S.M.A. Zobayed и P.K. Saxena (2003) на данном этапе у регенерантов *E. purpurea* отмечали высокую приживаемость (более 90%) [20].

В наших исследованиях длительность адаптации эхинацеи к условиям *ex vitro* в среднем составила 20-25 дней. В процессе исследования были выявлены различия в адаптационной способности исследуемых объектов при применении почвенного субстрата с разным составом (рис. 5).

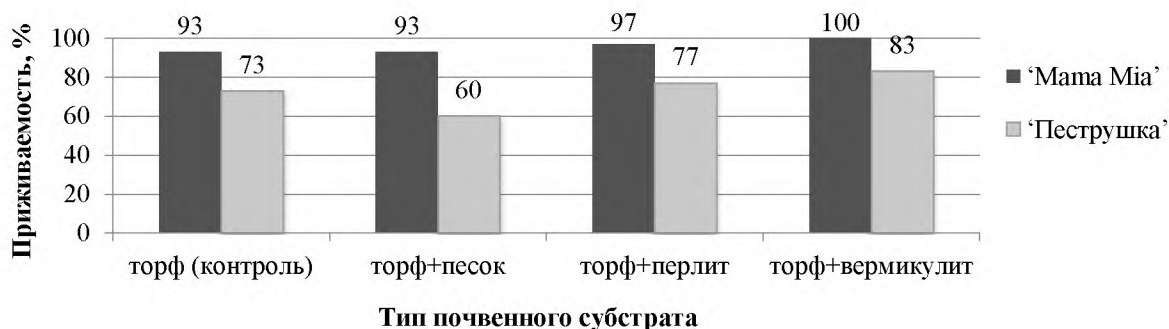


Рис. 5 Влияние состава почвенного субстрата на приживаемость *Echinacea × hybrida hort.*

Наибольшую приживаемость при адаптации к условиям *ex vitro* на всех вариантах почвенного субстрата наблюдали у сорта 'Мамa Mia' от 93 до 100%. Сорт 'Пеструшка' с вариегатной окраской листьев отличался меньшими значениями - от 60 до 83%. Для успешной адаптации исследуемых сортов использование почвенного субстрата, состоящего из торфа и вермикулита, было оптимальным.

Полученные результаты, возможно, связаны с разной окраской листьев, которая влияет на особенности строения устьичного аппарата и последующую адаптацию к условиям *ex vitro*. В условиях *in vitro* на абаксиальной стороне листовой пластинки исходный сорт 'Мамa Mia' характеризовался большим числом устьиц в поле зрения ($8,0 \pm 0,3$ шт.) с меньшей площадью ($664,2 \pm 7,3$ мкм²). У сорта 'Пеструшка' с вариегатной окраской листьев наблюдали противоположные значения – число устьиц было меньше ($5,1 \pm 0,1$ шт.), но они были большего размера ($922,8 \pm 18,9$ мкм²) [3].

Выявлено, что число листьев у исследуемых объектов также изменялось в процессе адаптации (рис. 6).

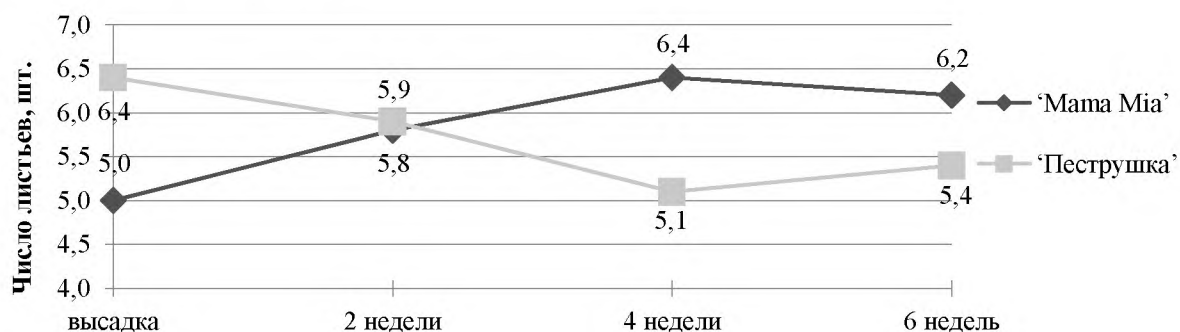


Рис. 6 Влияние периода адаптации на число листьев *Echinacea × hybrida hort.*

Установлено, что у исходного сорта 'Мамa Mia' в процессе адаптации увеличивалось число листьев от 5,0 до 6,2 шт. Сорт 'Пеструшка' реагировал более чувствительнее в процессе адаптации – до 2 недели листья частично засыхали и их число снижалось с 6,4 до 5,1 шт. Через 6 недель наблюдали увеличение числа с 5,1 до 5,4 шт., что свидетельствует об успешной адаптации данного соматоклона к условиям *ex vitro*.

Полученные регенеранты нормально развивались в условиях теплицы и через 3 месяца вступали в генеративную фазу. Впоследствии растения высаживали в открытый грунт на коллекционно-производственный участок.

Выводы

В процессе исследования были выявлены особенности размножения эхинацеи гибридной сорта 'Мама Миа' и его соматоклональных вариантов, оптимизированы условия и приемы культивирования на основных этапах клонального микроразмножения.

Выявлено, что исходный размер экспланта оказывал существенное влияние на рост и развитие микророзеток эхинацеи. Установлено, что для регенерации сорта 'Мама Миа' эффективно использовать экспланты высотой от 1,4 до 3,0 см, а для сорта 'Пеструшка' от 1,4 до 2,2 см, которые характеризуются большей регенерационной способностью, что обеспечивает увеличение высоты образовавшихся микророзеток.

Выявлено, что наибольшим морфогенетическим потенциалом характеризовался исходный сорт 'Мама Миа' (число микророзеток 4,7 шт.), наименьшим – соматоклональный вариант № 3 (2,5 шт.). На этапе микроразмножения оптимальным для культивирования сортов 'Мама Миа' и 'Пеструшка' было использование питательной среды МС содержащей 0,2 мг/л 6-БАП, коэффициент размножения при этом составил 6,7 шт. и 5,3 шт., для соматоклональных вариантов № 2 и № 3 – 0,1 мг/л 6-БАП (4,4 шт. и 3,2 шт.).

Установлено, что на этапе укоренения применение среды $\frac{1}{2}$ МС с добавлением ИУК в концентрации 0,3 мг/л эффективно влияло на формирование корневой системы у регенерантов эхинацеи. В процессе исследования у исходного сорта 'Мама Миа' и его соматоклонов наблюдали различия, как в темпе развития корневой системы, так и в морфологии.

В процессе адаптации к условиям *ex vitro* наибольшую приживаемость на всех вариантах почвенного субстрата наблюдали у сорта 'Мама Миа' (от 93 до 100%), по сравнению с сортом 'Пеструшка' (от 60 до 83%). Успешная адаптация регенерантов отмечена при использовании почвенного субстрата, состоящего из торфа и вермикулита.

Работа выполнена в рамках государственного задания ГБС РАН №122011400178-7

Список литературы

1. Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнология на их основе. – М.: ФБК-ПРЕСС, 1999. – 160 с.
2. Исачкин А.В., Крючкова В.А. Основы научных исследований в садоводстве: учебник для вузов / под ред. А.В. Исачкина. – Санкт Петербург: Лань, 2020. – 420 с.
3. Крахмалева И.Л., Молканова О.И. Строение устьичного аппарата у отборных форм *Echinacea* // Материалы II Международной научно-практической конференции «Геномика и современные биотехнологии в размножении, селекции и сохранении растений». – С. 129-130.
4. Крахмалева И.Л., Молканова О.И. Размножение представителей рода *Echinacea* Moench в культуре *in vitro* // Бюллетень Государственного Никитского ботанического сада. – 2020. – № 136. – С. 49-54. – [Электронный ресурс] – URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/razmnozhenie-predstaviteley-roda-echinacea-moench-v-kulture-invitro>
5. Лебедев В.Г., Азарова А.Б., Шестибратов К.А., Деменко В.И. Проявление соматоклональной изменчивости у микроразмноженных и трансгенных растений // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. – 2012. – № 1. – С. 153-163. – [Электронный ресурс] – URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/proyavlenie-somaklonoynoy-izmenchivosti-u-mikrorazmnozhenykh-i-transgennykh-rasteniy>

6. 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
7. Муратова С.А., Соловых Н.В., Терехов В.И. Индукция морфогенеза из изолированных соматических тканей растений. – Мичуринск: Изд-во Мичуринского госагроуниверситета, 2011. – 107 с.
8. Санарбаева Н.А. Систематический обзор рода *Echinacea* Moench // Наука и новые технологии. – 2010. – №1. – С. 56-58. – [Электронный ресурс] – URL: <http://science-journal.kg/en/journal/1/archive/5301>
9. Сидоров В.А. Биотехнология растений. Клеточная селекция. – Киев: Наукова думка, 1990. – 280 с.
10. Abbasi B.H., Saxena P.K., Murch S.J., Liu C.-Z. *Echinacea* biotechnology: Challenges and opportunities // In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant. – 2007. – Vol. 43. – P. 481-492. DOI: 10.1007/s11627-007-9057-2
11. Bairu M.W., Aremu A.O., Van Staden J. Somaclonal variation in plants: causes and detection methods // Plant Growth Regulation. – 2011. – Vol. 63(2). – P. 147-173. DOI: 10.1007/s10725-010-9554-x
12. Grossman M.C. Controlling growth in *Echinacea* hybrids: Dissertation doctoral of philosophy in horticulture. – USA, 2017. – 132 p. – [Электронный ресурс] – URL: https://vtechworks.lib.vt.edu/bitstream/handle/10919/77578/Grossman_MC_D_2017.pdf?sequence=1
13. Hammer Ø., Harper D.A.T., Ryan P.D. PAST v. 2.17c. // Palaeontol. Electron. – 2001. – Vol. 4(1). – P. 1-9.
14. Koroch A.R., Kapteyn J., Juliani H.R., Simon J.E. In vitro regeneration of *Echinacea pallida* from leaf explants // In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant. – 2003. – Vol. 39(4). – P. 415-418. DOI: 10.1079/IVP2003424
15. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiologia Plantarum. – 1962. – Vol. 15(3). – P. 473-497. – [Электронный ресурс] – URL: <https://www.semanticscholar.org/paper/A-revised-medium-for-rapid-growth-and-bio-assays-Murashige-Skoog/7463a45e234f30e683a1c509543d5cd5747231a7>
16. Lakshmanan P., Danesh M., Taji A. Production of four commercially cultivated *Echinacea* species by different methods of in vitro regeneration // J. Hortic. Sci. Biotechnol. 2002. – Vol. 77. – P. 158-163. DOI: 10.1080/14620316.2002.11511473
17. Parsons J.L., Cameron S.I., Harris C.S., Smith M.L. *Echinacea* biotechnology: advances, commercialization and future considerations // Pharmaceutical biology. – 2018 – Vol. 56(1). – P. 485-494. DOI: 10.1080/13880209.2018.1501583
18. Sauve R.J., Mmbaga M.T., Zhou S. In vitro regeneration of the Tennessee coneflower (*Echinacea tennesseensis*) // In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant. – 2004. – Vol. 40(3). – P. 325-328. DOI: 10.1079/IVP2004530
19. Zhang N., Erickson D.L., Ramachandran P., Ottesen A.R., Timme R.E., Funk V.A., Luo Y., Handy S.M. An analysis of *Echinacea* chloroplast genomes: implications for future botanical identification // Scientific reports. – 2017. – Vol. 7. – Article number 216. DOI: 10.1038/s41598-017-00321-6
20. Zobayed S.M.A., Saxena P.K. In vitro regeneration of *Echinacea purpurea* L.: enhancement of somatic embryogenesis by indolebutyric acid and dark pre-incubation // In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant. – 2003. – Vol. 39. – P. 605-612. DOI: 10.1079/IVP2003434

Статья поступила в редакцию 28.02.2022 г.

Krakhmaleva I.L., Molkanova O.I. Biotechnological features of reproduction of somaclonal variants of *Echinacea* × *hybrida* hort. // Bull. of the State Nikita Botan. Gard. – 2022. – № 144 – P. 95-104

The present investigation revealed the features of *in vitro* propagation of the *Echinacea* × *hybrida* 'Mama Mia' cultivar and its somaclonal variants with different leaf colors. The optimal conditions of plant organogenesis at the main micropropagation stages were determined. It was shown that the size of the initial explant had a significant impact on the growth and development of echinacea microrosettes. 'Mama Mia' cultivar was characterized by the highest morphogenetic potential than other studied genotypes. Murashige and Skoog (MS) culture medium supplemented with 0.2 mg/L 6-BAP was found optimal for 'Mama Mia' and 'Pestrushka' micropropagation, while medium with 0.1 mg/L 6-Benzylaminopurine (6-BAP) showed efficiency for other somaclones. Half strength MS medium with 0.3 mg/L β-indole acetic acid (IAA) was effective for root system formation at the rooting stage of echinacea. The adaptation of 'Mama Mia' and 'Pestrushka' regenerants was carried out on the optimal substrate consisting of peat and vermiculite wherein the survival rate of regenerants reached 100% and 83%.

Key words: *Echinacea*; clonal micropropagation; somaclonal variability; regeneration potential; rizogenesis; adaptation