

## 10. Способы размножения в декоративном садоводстве

### 10.1. Некоторые аспекты клонального микроразмножения декоративных культур на примере *Rosa L.* и *Hydrangea L.*

(Л.Р.Ахметова, Е.В.Соболева, Х.В.Шарафутдинов)

Декоративное садоводство - это отрасль растениеводства, занимающаяся выращиванием различных видов растений в декоративных целях, например, для создания оранжерей, букетов, зеленых насаждений под открытым небом. Также декоративные растения можно использовать для украшения жилых и производственных помещений. Декоративное садоводство - очень модное и относительно молодое направление в нашей стране. Эта наука берет свое начало еще с древних времен, когда люди только начали обустраивать и украшать свои жилища.

Садоводство зародилось в далеком прошлом, на заре человеческой цивилизации, когда человек, осев на постоянном месте, почувствовал необходимость обустройства мира вокруг себя.

Первым этапом развития садоводства, так же как растениеводства и животноводства, было использование человеком дикорастущих плодовых растений с постепенным приближением их в будущем к своему жилищу.

Несмотря на древнейшие традиции и богатый опыт, наука о садоводстве является сравнительно молодой и постоянно развивающейся (Парахин, 2013). Возникают новые знания о биологии садовых деревьев, совершенствуются методы и приемы выращивания культур, ведется интенсивная селекционная работа, в результате которой появляются новые улучшенные сорта садовых культур, устойчивые к ряду заболеваний и вредителей, а также к неблагоприятным условиям произрастания (Кузичева, 2010).

Одними из наиболее ярких представителей декоративных культур являются розы и гортензии. В ландшафтном дизайне кустам роз и гортензий, как правило, отводится центральная роль. Истинно королевские цветы созданы природой и людьми. Розы и гортензии притягивают к себе взоры и в

композиции акцентируют большую часть внимания на себя. Эти декоративные культуры поистине будут смотреться гармонично в любой композиции.

*Rosa* L. - это отдельный род семейства розоцветных (Rosaceae), который объединяет различные виды культурных (розы) и дикорастущих (шиповники) растений.

Для удобства ориентирования во всем разнообразии сортов Американским обществом розоводов (ARS) была создана классификация роз, основой которой стало не их происхождение, а устойчивые садовые признаки - биологические и декоративные особенности видов и сортов. Утверждена Всемирной федерацией обществ розоводов (WFRS) в 1976 году.

В результате все розы были разделены на три большие самостоятельные группы: Species - дикорастущие виды (шиповник); Old Garden Rose - старинные садовые розы. Сорты, известные до появления чайно-гибридных роз (1867 г.) и оставленные без изменений, в силу своего особого исторического положения. В эту группу входят розы, имеющие сложное гибридное происхождение и утратившие облик шиповников; Modern Rose - современные садовые розы.

К современным садовым розам относятся следующие классы: Флорибунда, Грандифлора, Гибриды розы Кордеса, Гибриды розы Мойези, Гибриды розы Мускусной, гибриды розы Ругоза, гибриды розы Вихураяна, Чайно-гибридные розы, Плетистые крупноцветковые розы, Миниатюрные розы, Минифлора или Патио, Полиантовые розы и Шрабы (Былов, 2008).

Современные сорта могут представлять собой корнесобственные растения, которые были получены путем черенкования, размножением отводками или делением куста. Но большая часть культивируемых роз - не корнесобственные, а привитые на шиповник. Корневая система привитых роз имеет главный стержневой корень, который глубоко проникает в почву, и от которого отходят боковые корни. Скелетные корни, покрытые снаружи темной коричневой корой, выполняют функцию закрепления растения в почве и являются проводящей системой питания к надземной части роз. Помимо этого, в утолщенных корнях растений откладываются запасные питательные

вещества.

Гортензию можно назвать «Магнитом» любого цветника. «Hydrangea» в переводе с греческого языка означает «сосуд с водой». Это неудивительно, ведь гортензия очень любит воду.

Род *Hydrangea* L. (*Hydrangea* L.) - относится к порядку Кизилоцветные (*Cornales* Dumort.), семейству Гортензиевые (*Hydrangeaceae*). Род представлен более 80 видами и более 100 сортами данной культуры (Arafa, 2017). Культура распространена в Восточной и Южной Азии, Китае, Японии, Северной и Южной Америке, России.

В Европе видовые гортензии появились в 1789 году. В появление этих видов внес вклад ботаник Д. Бэнкс. Селекция культуры началась в 1900 году. Самый первый сорт был выведен ученым В. Лемуаном в 1904 году. Сорт носит название «Blue Wave». Также в селекции гортензии известны такие фамилии как: Муер, Вендом, Нанси. Позже такие оригинаторы, как: Кайе и Домото (Франция), Винтердален и Фишер (Германия) начали заниматься выведением компактных низкорослых сортов с ранними сроками цветения. Именно так и распространилась данная культура по всему миру.

Самые распространенные виды гортензии: гортензия метельчатая (*Hydrangea paniculata* Siebold), гортензия древовидная (*Hydrangea arborescens* L.), гортензия крупнолистная или садовая (*Hydrangea macrophylla* Thunb.), гортензия почвопокровная или разноопушенная (*Hydrangea heteromalla* D.Don), гортензия Бретшнейдера (*Hydrangea Bretschneider* Dippel.), гортензия пепельная (*Hydrangea ceneria* Small.), гортензия пильчатолстная (*Hydrangea serratifolia* (Hook. & Arn.) Phil.f.), гортензия Саржента (*Hydrangea sargentiana* Rehder) и др.

Гортензия занимает достойное место в ландшафтном озеленении. Сорта древовидной гортензии подходят для создания живой изгороди, в качестве фона для цветника. Такие сорта гортензии метельчатой как: Floribunda, Grandiflora, Vobo, отлично смотрятся в одиночных посадках (солитеры). А группы сортов гортензии древовидной, таких как Sterilis, Annabelle и ее разновидности замечательно подойдут для групповых посадок. Многие виды и сорта гортензии

сажают возле древесных культур с кронами темных тонов, как, например, лещина. Гортензия хорошо смотрится с хвойными растениями. Культура будет украшать композиции из голубых елей, можжевельника и тиса. Гортензии крупнолистные серии *Endless summer* прекрасна у садовой дорожки и гармонично смотрится вместе с барбарисом оттавским и чубушников венечным. В миксбордерах гортензия занимает задний план, в клумбах центральную часть. В связи со способностью гортензии крупнолистной изменять свою окраску на синие тона, ее можно применять в совершенно разнообразных композициях. Не следует забывать, что гортензия отлично держится в срезке и используется, как сухоцвет. Сорта гортензии крупнолистной используют в горшечной культуре. Их выращивают в домашних условиях, выставляют на балконе, патио, террасах, чайных домиках.

В настоящее время спрос на декоративные и редкие сорта садовых культур растет, однако существуют некоторые трудности в получении большого количества посадочного материала малораспространенных и редких сортов и видов. Метод клонального микроразмножения является наиболее важным и эффективным способом поддержания биоразнообразия коллекций многолетних растений ботанических садов (особенно объектов, представленных в коллекции в единственном экземпляре или в ограниченном количестве) в связи с тем, что при культивировании *in vitro* в наибольшей степени обеспечивается стабильность генотипов репродуцируемых видов растений. Ряд преимуществ, таких как: получение генетически однородного материала, высокие коэффициенты размножения, возможность проведения работ в течение всего года и экономия площадей, необходимых для выращивания маточного материала, дают возможность с легкостью размножить декоративные культуры *in vitro*.

История клонального микроразмножения начинается с таких знаменитых имен как: Габерландт, Фехтинг, Рехингер- немецкие ученые, в конце XIX - начале XX века пытались культивировать изолированные из растений кусочки тканей, группы клеток, волоски. Ими же была выдвинута

гипотеза о существовании тотипотентности. Большой скачок в истории науки совершили ученые из США- Робинсон и Германии- Котте. Они постулировали необходимость использования более сложных сред для культивирования меристематических клеток. Позднее французский ученый Готре и американский ученый Уайт стали родоначальниками современных методов культивирования изолированных органов и тканей. Во второй половине IX века происходит расширение и оптимизация питательных сред: изучены составы макро- и микросолей, витамины и стимуляторы роста. Список культур, культивируемых *in vitro* степенно пополнялся. В то же время учеными Скугом и Миллером были открыты цитокинины. Выяснилось, что благодаря регулированию концентраций и соотношения цитокининов и ауксинов можно регулировать деление клеток экспланта, поддерживать рост каллусной ткани, индуцировать морфогенез. В 1960-70 годах был разработан метод клонального микроразмножения, позволяющий быстро с высоким коэффициентом клонально размножать растения в асептических условиях. В России работу по культуре тканей начали проводить в 1957 г. в институте физиологии растений им. К.А. Тимирязева. Теоретические основы культуры изолированных тканей изложены в монографии Р.Г. Бутенко (2016).

Метод клонального микроразмножения в последнее время вызывает все больший интерес. Сегодня ни для кого не секрет, что именно технология размножения *in vitro* в полной мере позволяет реализовать растительный потенциал организма к размножению. Посадочный материал таких декоративных культур, как роза и гортензия является одним из наиболее востребованных на современном рынке. А потому быстрое получение большого количества саженцев, особенно ценных, редких или трудноразмножаемых сортов, является весьма актуальным. Метод клонального микроразмножения является достойной альтернативой традиционным способам размножения, его высокая эффективность уже доказана на примере многих других декоративных растений, а также древесных и сельскохозяйственных культур.

В качестве материала для исследования некоторых аспектов клонального микроразмножения *Rosa* L. и *Hydrangea* L. были использованы наиболее декоративные и востребованные сорта данных культур, ранее не встречающиеся в подобных исследованиях.

Целью данного исследования является совершенствование некоторых биотехнологических приемов размножения представителей родов *Rosa* L. и *Hydrangea* L. Для ее достижения необходимо решить следующие задачи:

- Подобрать оптимальную минеральную основу питательной среды для культивирования микрорастений;
- Оптимизировать источник углеводного питания растений *in vitro*;
- Изучить влияние типа и концентрации регуляторов роста на морфометрические показатели растений на этапе размножения.

Исходный материал предоставлен из розария лаборатории декоративных растений, а также взят из коллекции лаборатории биотехнологии растений ГБС им. Н.В. Цицина РАН, где и проводились данные исследования.

В исследовательской работе были использованы растения различных групп и сортов рода *Rosa* L.: шрабы – «Hope for Humanity», «Morden Centennial», полиантовый гибрид «Denise Cassegrain», ремонтантный гибрид «Marie Baumann», миниатюрная роза - «Дюймовочка»; перспективные сорта гортензии зарубежной селекции: гортензия метельчатая: «Polar bear», «Praecox», «Magical Candle», «Candlelight», «Wim's red»; гортензия крупнолистная: «Bodensee», «Forever & Ever Blue», гортензия древовидная: «Sterilis».

Работа выполнена согласно методике изолированных тканей, Н. В. Катаевой и Р. Г. Бутенко (1983г.). В работе использовали классические приемы с изолированными тканями и органами растений (Молканова, 2016). В качестве первичных эксплантов были использованы латеральные почки и узловые сегменты побегов текущего года. Культивирование растений проводилось в стерильных лабораторных условиях. Микроробегги выращивали при освещении 2000 лк и фотопериоде 16/8 ч., температуре 23...25 °С и влажности 70 %.

Для изучения влияния минерального состава среды на рост и развитие представителей рода *Rosa* L. микропобеги растений помещали на питательные среды с разной минеральной основой: MS - Мурасиге и Скуга (Murashige T., 1962) и QL - Кворина-Лепорье (Quoirin, 1977) дополненные 0,5 мг/л 6-БАП.

Для изучения влияния источника углеводного питания на развитие микрорастений роз использовали глюкозу и сахарозу в концентрации 30 г/л.

Для изучения влияния гормонального состава среды на рост и развитие роз на этапе собственно микроразмножения использовали питательную среду MS, дополненную 6-БАП и 2-ип в концентрации 0,5; 1,0; 1,5 мг/л.

На этапесобственно микроразмножения для представителей рода *Hydrangea* L. использовали питательную среду MS. В качестве источника цитокинина использовали 6-БАП (бензиламинопурин) в концентрации 0,3- 2 мг/л.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием пакета анализа Microsoft Office Excel и методических материалов (Исачкин, 2020).

При анализе опыта по микроклональному размножения гортензии были получены следующие результаты. Из рис. 10.1 видно, что среди вида *Hydrangea paniculata* наибольшим коэффициентом размножения характеризовались сорта «Wim's red» - 11,8, «Candlelight» - 10,4. Наименьший коэффициент размножения наблюдался у сортов 3,8 и «Polar bear» - 4,6. Сорт «Sterilis» *Hydrangea arborescens* характеризовался наименьшим коэффициентом размножения среди всех объектов исследования – коэффициент размножения 2,9. Коэффициент размножения сортов *Hydrangea macrophylla* варьировал от 3,5 до 4,5.

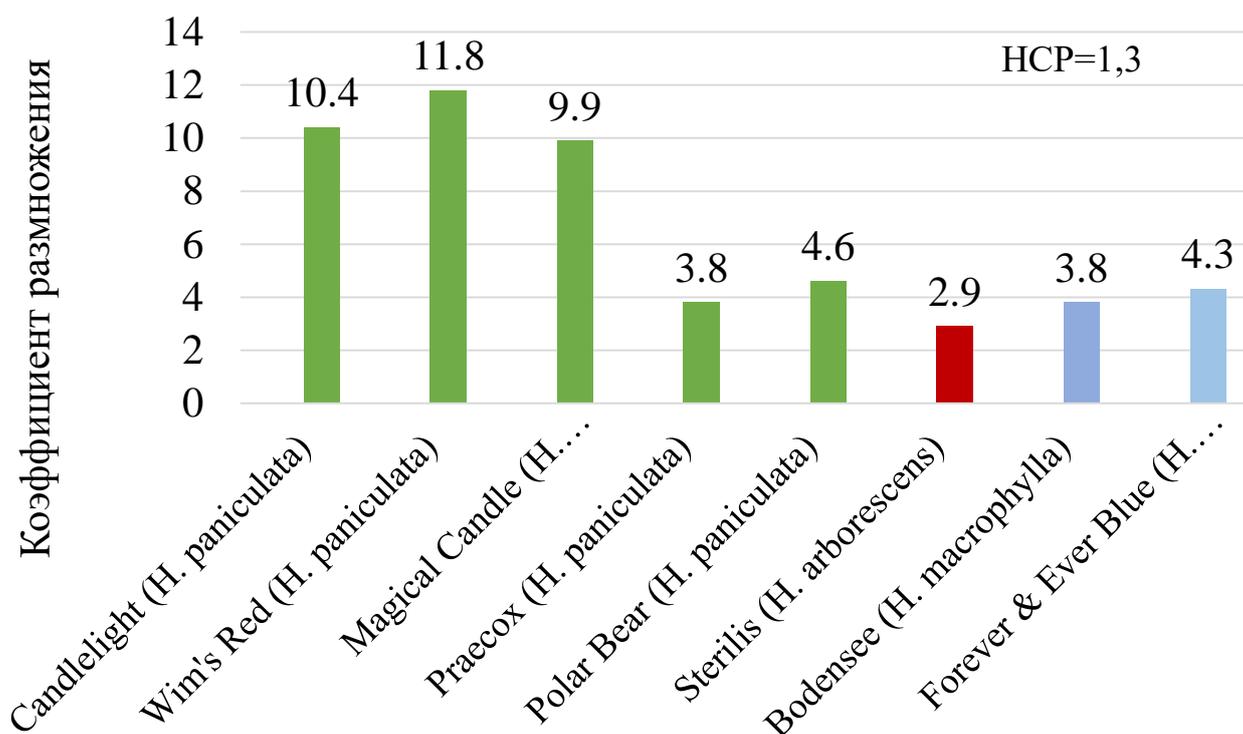


Рисунок 10.1. – Групповые средние по градациям фактора А (сорт)

Групповые средним по градациям фактора А (сорт) между видами представлены на рис. 10.2. Согласно графику, наибольший коэффициент размножения наблюдается у сортов вида *Hydrangea paniculata*- 8,1, наименьший- *Hydrangea arborescens*- 2,9, у сортов вида *Hydrangea macrophylla* коэффициент размножения составил 4,0.

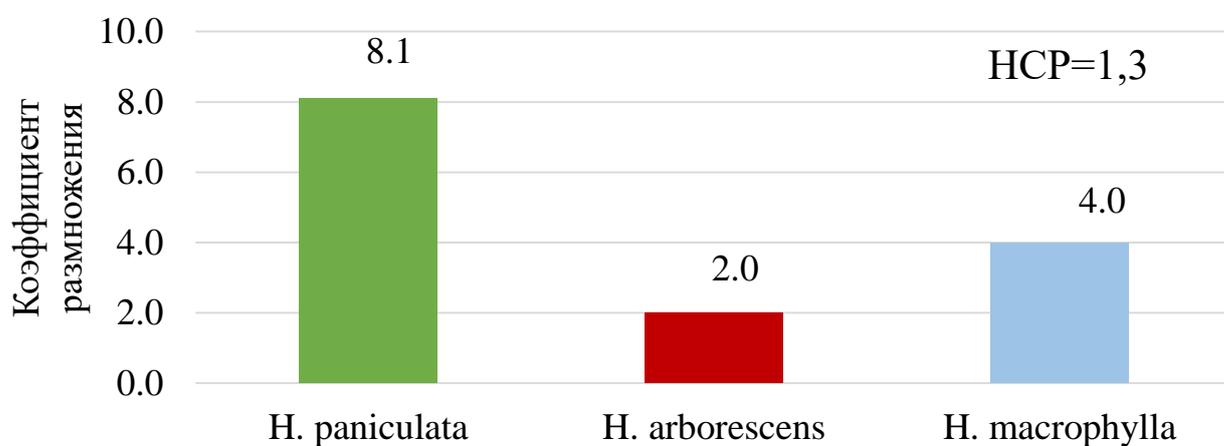


Рисунок 10.2. – Групповые средние по градациям фактора А (сорт) между видами

В результате анализа групповых средних по градациям фактора В (концентрация гормона 6-БАП) отмечено, что наибольший коэффициент размножения у сортов наблюдался при концентрации 1 мг/л 6-БАП и составил 10,0; наименьший- на безгормональной основе- 3,4. Также наблюдалась тенденция увеличения коэффициента размножения с увеличением концентрации 6-БАП (рис. 10.3).

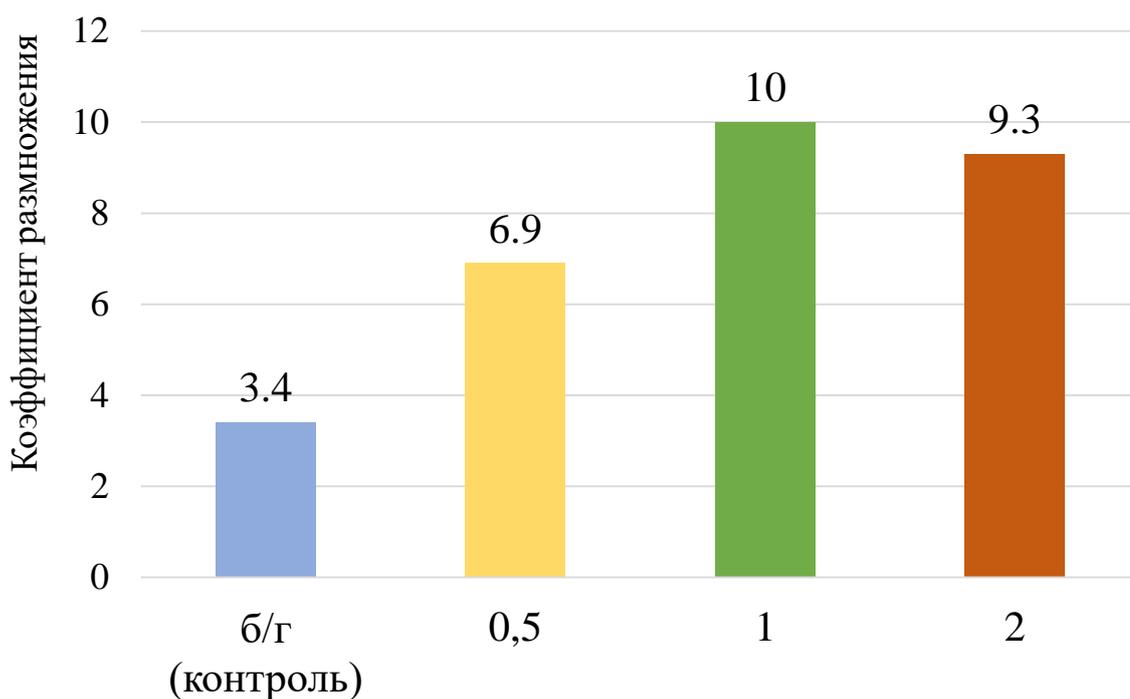


Рисунок 10.3. – Групповые средние по градациям фактора В (концентрация гормона 6-БАП)

В результате проведенного двухфакторного дисперсионного анализа влияния сорта и концентрации 6-БАП на коэффициент размножения различных сортов *Hydrangea* L. можно сделать выводы, что фактор сорт, концентрация 6-БАП и взаимодействие этих факторов влияют на коэффициент размножения. Наибольшее влияние оказывает фактор А (сорт), наименьшее - случайный фактор. Выяснилось, что среди всех исследуемых представителей рода *Hydrangea* L. коэффициент размножения принимает наибольшее значение в концентрации 6-БАП 1 мг/л. У многих представителей рода наблюдается

тенденция к увеличению коэффициента размножения с увеличением концентрации цитокинина.

Сравнительный анализ влияния различных минеральных основ на высоту микропобегов представителей рода *Rosa* L. показал, что лучший результат достигается на среде Мурасиге и Скуга (MS) (рис. 10.4).

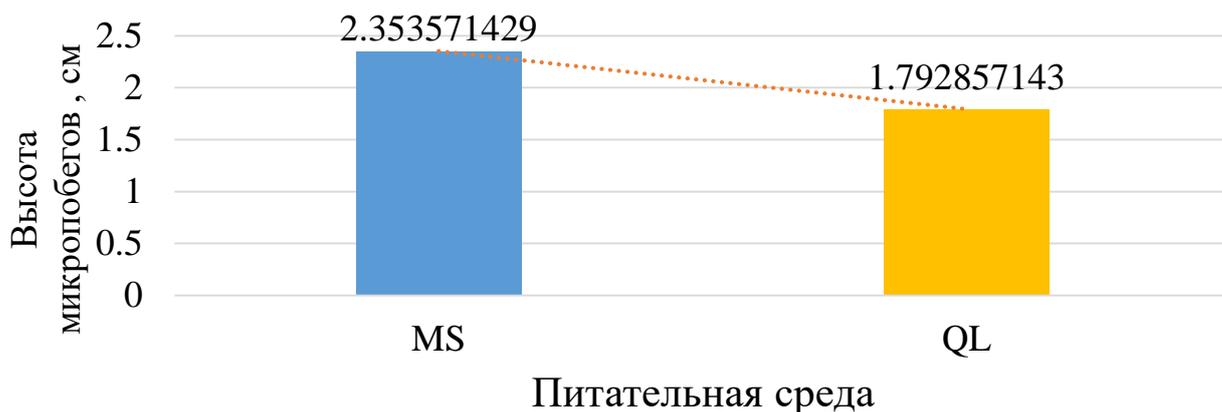


Рисунок 10.4. – Средняя высота микропобегов представителей рода *Rosa* L. на питательных средах с разным минеральным составом,  $HCP_{05} = 0,37$

В результате двухфакторного дисперсионного анализ влияние минеральной основы питательной среды на коэффициент размножения микропобегов сортов роз выявлено, что на коэффициент размножения большей степени влияет генотип и содержание в составе питательной среды регуляторов роста, однако в нашем исследовании нет достоверных сведений об этом, что может объясняться недостаточным количеством исходных данных. Так как процент влияния генотипа не учитывается в этом исследовании, основным влиянием обладает совокупность случайных факторов.

Максимальный коэффициент размножения (13,4) наблюдали на питательной среде MS (рис. 10.5).

Таким образом можно сделать вывод, что питательная среда MS является оптимальной для культивирования сортов «Acropolis» и «Glamis»

Castle». Поэтому дальнейшие опыты проводились с ее использованием данной питательной среды.

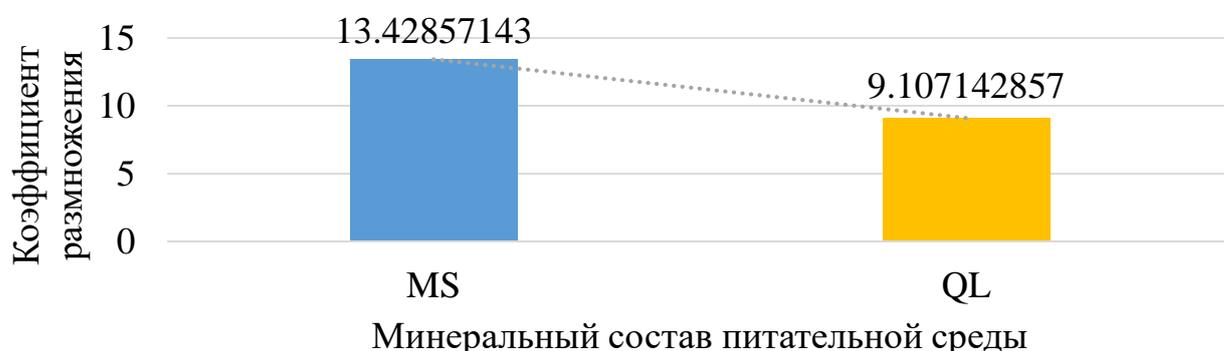


Рисунок 10.5. – Влияние минеральной основы питательной среды на коэффициент размножения микропобегов роз сортов, НСР<sub>05</sub>= 3,82

Известно, что для улучшения протоколов микроразмножения некоторых сортов роз применяют различные питательные среды и регуляторы роста, изменяют источники углерода. При культивировании *in vitro* чаще всего в качестве источника углеводного питания используют сахарозу в концентрации 20-40 г/л. В некоторых исследованиях при культивировании представителей родов *Actinidia*, *Clematis*, *Rosa*, *Rubus* положительный эффект был получен при использовании глюкозы. Дополнительно было изучено влияние источника углевода на параметры роста микропобегов сорта «Hope for Humanity», «Morden Centennial», «Denise Cassegrain» и «Дюймовочка» (рис. 10.6, 10.7).

Сравнительная оценка по такому показателю, как средняя высота микропобега, показала, что изменение углеводного состава среды положительно влияет на силу роста микропобегов сорта «Hope for Humanity» и «Morden Centennial», относящимся к канадским шрабам. В случае сортов «Denise Cassegrain» и «Дюймовочка» не показано существенного увеличения длины микропобега, что может быть связано с особенностями группы полиантовых и миниатюрных роз, к которым относятся данные сорта.

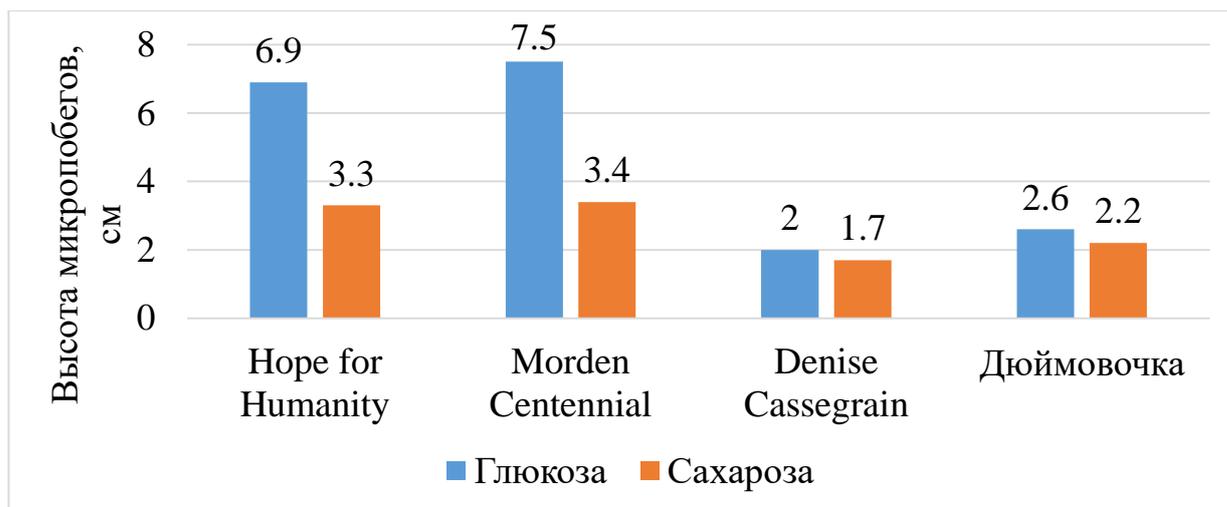


Рисунок 10.6. – Влияние типа углевода на высоту микропобегов разных сортов роз

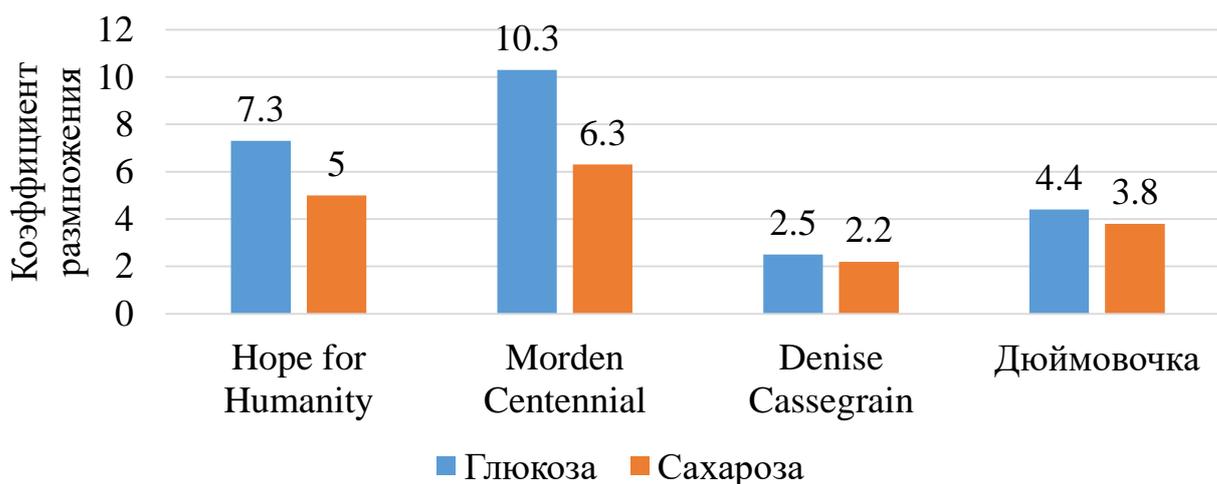


Рисунок 10.7. – Влияние типа углевода на коэффициент размножения разных сортов роз

Использование в качестве источника углеводного питания глюкозы существенно влияет на повышение коэффициента размножения сортов роз. Наибольшей отзывчивостью на изменение типа углевода характеризуется сорт - «Morden Centennial» .

При обработке полученных данных о влиянии типа и концентрации регулятора роста, а также генотипа роз на высоту микропобегов установлено

влияние на высоту микропобегов следующих факторов: генотипа, типа регулятора роста, его концентрации, взаимодействия генотипа и концентрации регулятора роста, взаимодействия типа регулятора роста и его концентрации, общее взаимодействие трех факторов, а также влияние случайных факторов. Доли влияния факторов отображены на рисунке 10.8.

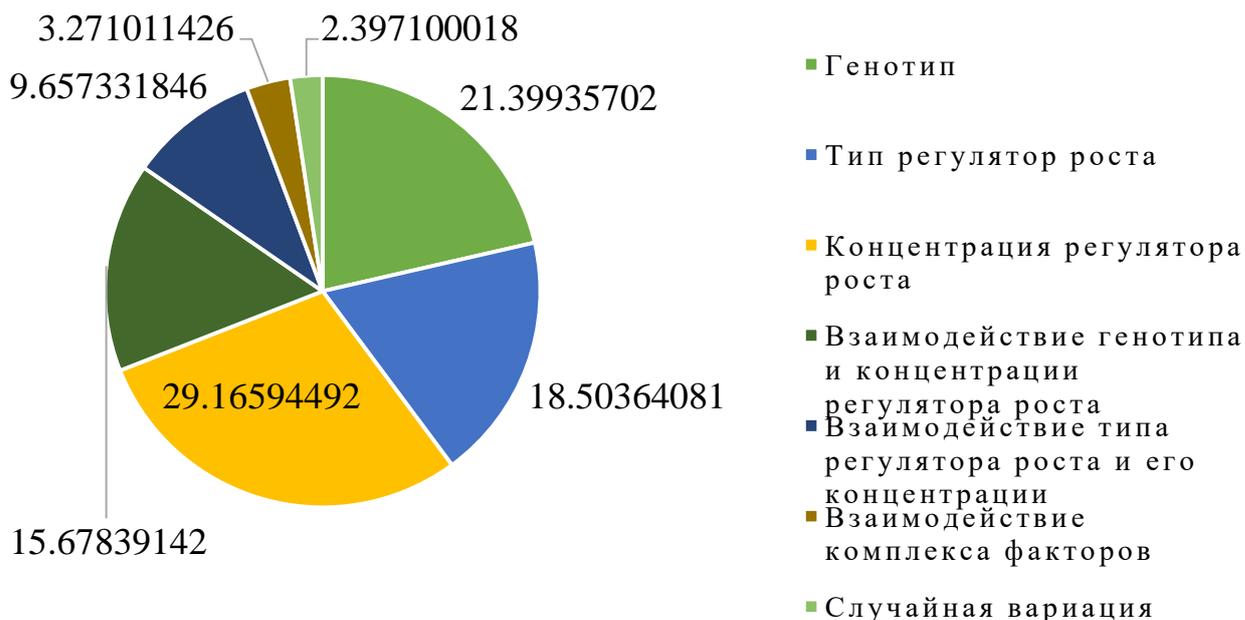


Рисунок 10.8. – Круговая диаграмма долей влияния факторов

Максимальную высоту микропобегов наблюдали у сорта «Morden Centennial» (рис. 10.9).

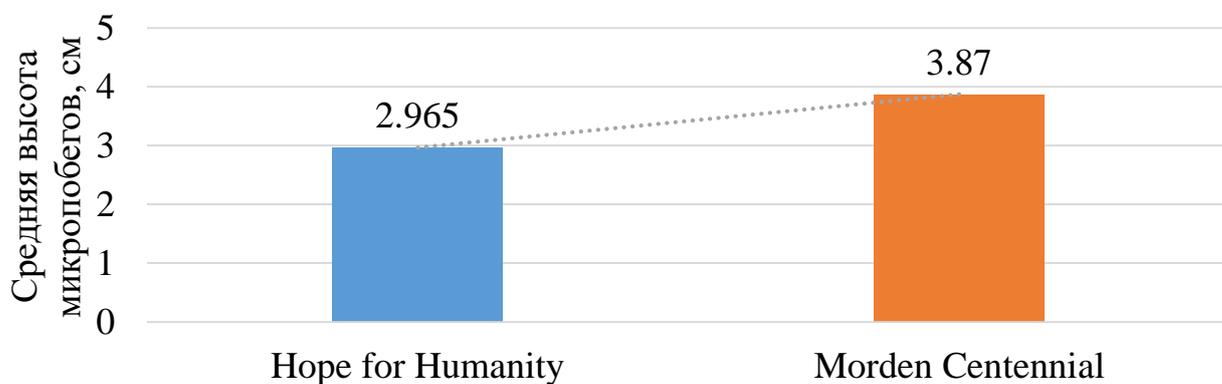


Рисунок 10.9. - Влияние генотипа на высоту микропобегов,  $НСР_{05} = 0,08$

Применение регулятора роста 6-БАП в большинстве случаев оказывало существенное влияние на высоту микропобегов (рис. 10.10).

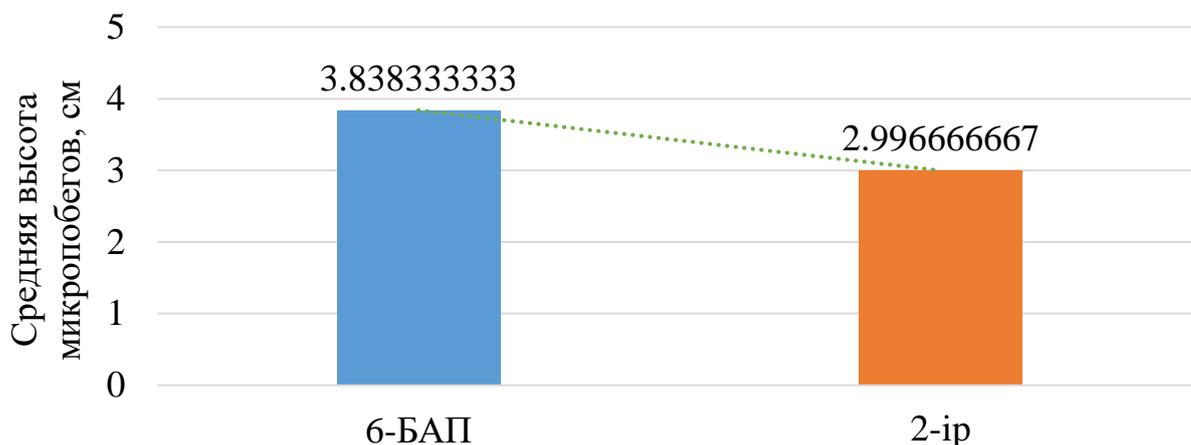


Рисунок 10.10. – Влияние типа регулятора роста на высоту микропобегов,  $НСР_{05} = 0,08$

На рисунке 10.11 наблюдается прямая зависимость увеличения высоты микропобегов от повышения концентрации регулятора роста в питательной среде.

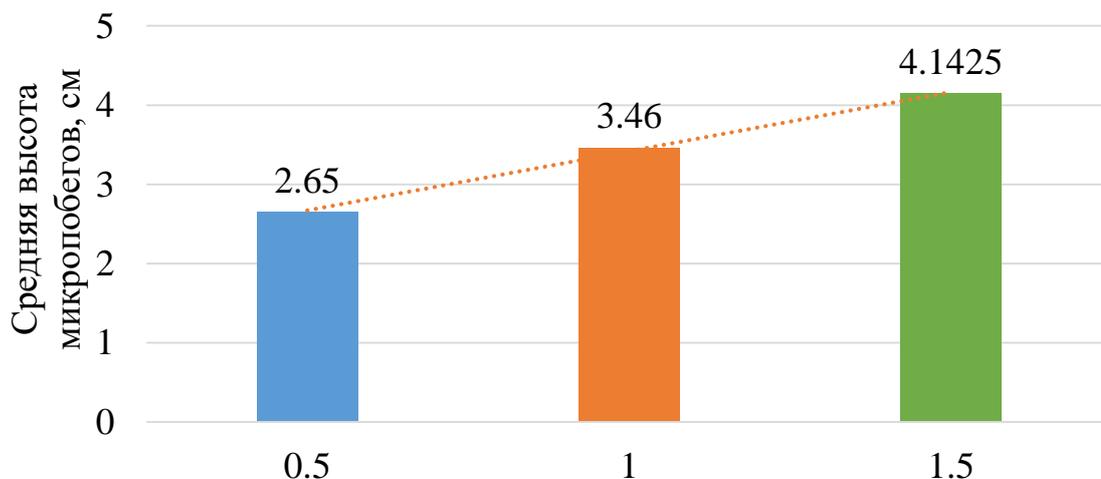


Рисунок 10.11. – Влияние концентрации регулятора роста на высоту микропобегов,  $НСР_{05} = 0,1$

Увеличение концентрации цитокинина в питательной среде приводило к увеличению высоты микропобегов у всех изучаемых генотипов (рис. 10.12)

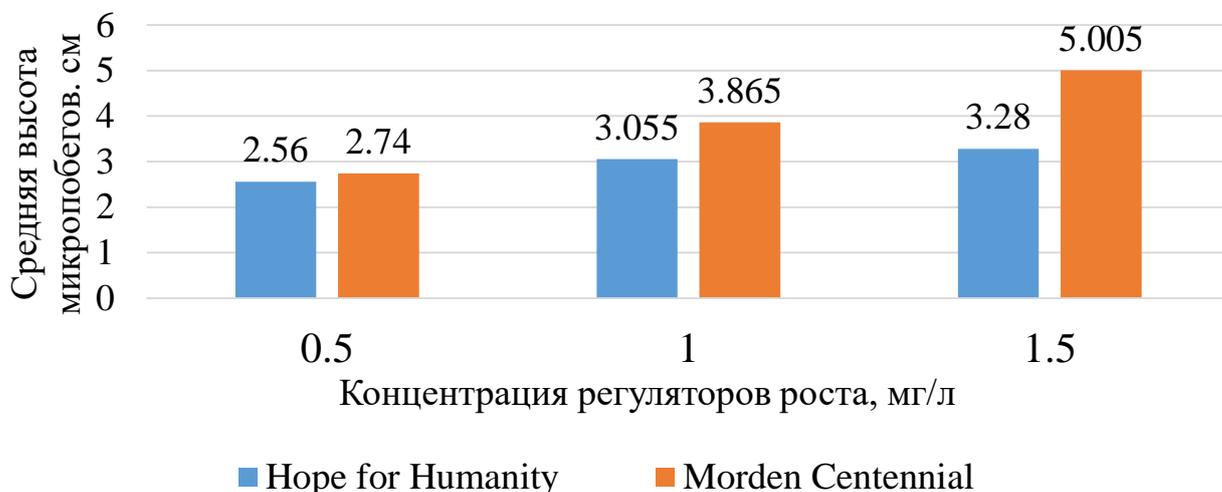


Рисунок 10.12. – Влияние генотипа и концентрации регуляторов роста на высоту микропобегов, НСР<sub>05</sub>= 0,20

При анализе влияния взаимодействия типа и концентрации регулятора роста можно сделать вывод, что на питательной среде с добавлением 1,5 мг/л 6-БАП наблюдается увеличение средней высоты микропобегов (рис. 10.13).

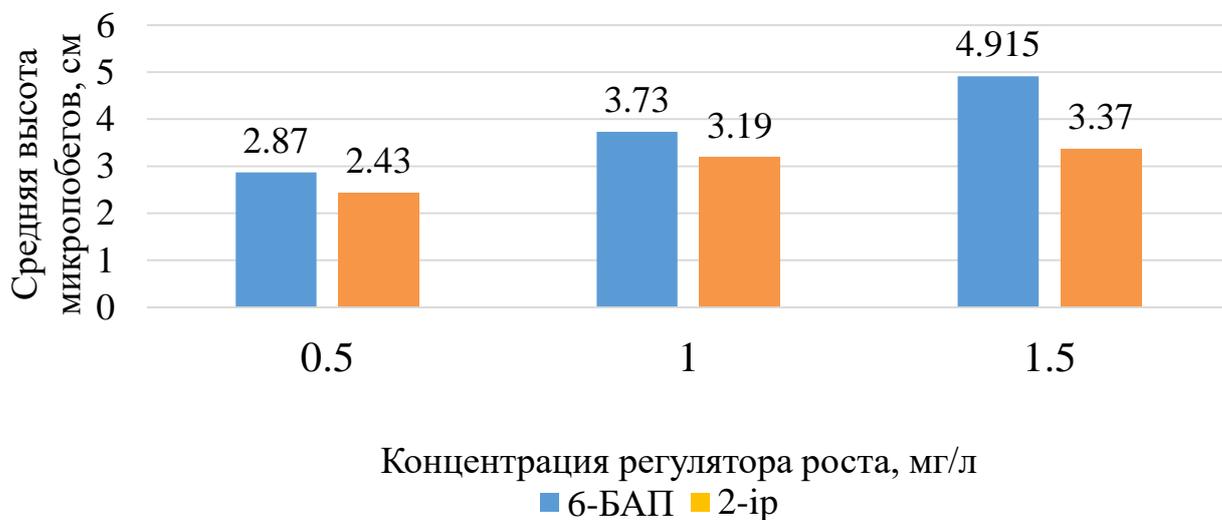


Рисунок 10.13. - Влияние типа регулятора роста и его концентрации на

высоту микропобегов,  $НСР_{05}= 0,20$

Графическое изображение совокупности влияния генотипа, типа и концентрации регулятора роста, а также матрица разностей групповых средних для совокупности факторов В и С приведены на рисунке 10.14.

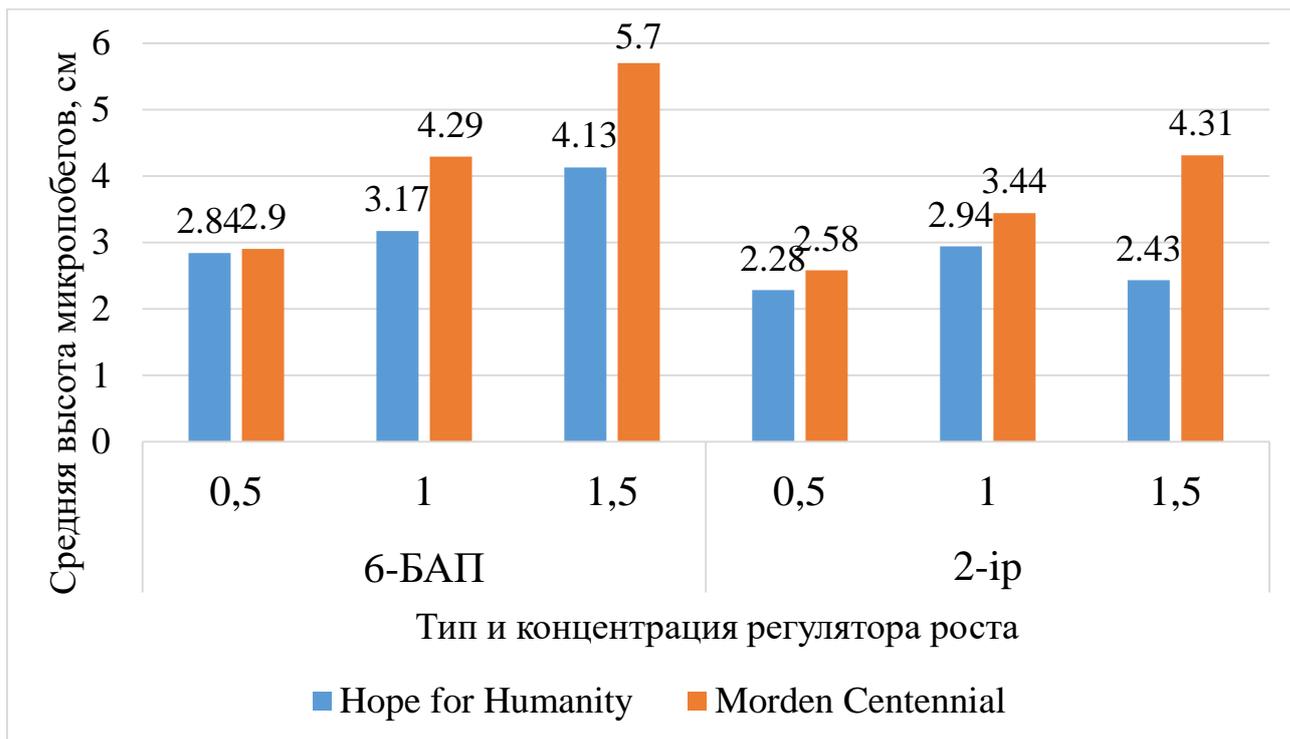


Рисунок 10.14. – Влияние комплекса факторов на высоту микропобегов,  $НСР_{05}= 0,32$

Увеличение концентрации регулятора роста 6-БАП в большинстве случаев оказывало существенное влияние на высоту микропобегов, поскольку самым результативным из трех был вариант с максимальной концентрацией гормона.

На основании проведенного анализа, можно сделать вывод, что питательная среда MS с добавлением 1,5 мг/л 6-БАП является оптимальной для пролиферации сортов «Morden Centennial» и «Hope for Humanity». При этом сорт «Morden Centennial» отличается наибольшим морфогенетическим

потенциалом.

В промышленных масштабах в условиях *in vitro* культуры *Hydrangea* L. и *Rosa* L. рекомендуется размножать с использованием питательной среды Мурасиге-Скуга (Murashige and Skoog, 1962). Рекомендуется использование глюкозы (30 г/л) в качестве источника углеводного питания. В качестве источника цитокинина используется 6-БАП (бензиламинопурин) в концентрации 0,3- 2 мг/л. Для представителей рода *Hydrangea* L. наиболее оптимальной считается среда с добавлением цитокинина в концентрации 1 мг/л, для представителей рода *Rosa* L.- 1,5 мг/л. Оптимизируя технологию клонального микроразмножения декоративных сортов, возможно решить проблему нехватки посадочного материала для озеленения и благоустройства территорий.

## **10.2. Сравнительная характеристика структур побеговых систем хвойных растений вегетативного происхождения у родов *Juniperus* и *Thuja* (А.Н.Сахоненко, Д.Л.Матюхин, М.В.Симахин)**

Представители родов туя и можжевельник имеют широкое территориальное распространение и большое значение в различных отраслях (озеленении городов, медицине, деревообрабатывающей промышленности).

Со второй половины XX века сформировался новый подход к описанию ветвей древесных растений, связанный с понятием о системах элементарных моноритмических побегов (СЭМП), образующихся за один период видимого (внепочечного) роста (Матюхин, 2012). Многие исследования посвящены тем видам растений, которые дают за один период внепочечного роста один элементарный побег. Напротив, у родов *Thuja* и *Juniperus* имеет место образование систем силлептических побегов многих порядков ветвления, структура которых обладает качественной спецификой (Матюхин, 2012).

В работе впервые с позиции СЭМП рассматривается структура побегов из различной части кроны у особей видов и форм родов *Thuja* L. и *Juniperus* L.