

УДК 712
ББК 85.118.7
П78

Под общей редакцией А. И. Коршенко, канд. эконом. наук

Проблемы озеленения населённых пунктов : материалы городской научно-практич. конф., г. Владивосток, 23 мая 2013 г. / Администрация города Владивостока ; [под общей редакцией А. И. Коршенко]. – Владивосток : Мор. гос. ун-т. – 162 с.

ISBN 978-5-8343-0810-2

Настоящий сборник докладов подготовлен по результатам проведения городской научно-практической конференции, посвященной проблемам озеленения населенных пунктов, в рамках реализации долгосрочной целевой программы «Сохранение и развитие зеленых насаждений города Владивостока» на 2011—2015 годы.

В сборник вошли доклады участников конференции, представленные на пленарном заседании, а также на секциях по следующим направлениям: «Теоретические аспекты и проблемы озеленения городов», «Ландшафтный дизайн урбанизированных территорий», «Роль экологического образования в сохранении и развитии зеленого фонда населенных пунктов». Тематика докладов очень разнообразна и охватывает многие актуальные проблемы озеленения. По итогам конференции утверждена резолюция, которая также опубликована в настоящем сборнике. Доклады публикуются в том виде, в котором были представлены авторами.

Сборник рекомендуется в качестве справочного пособия для представителей научно-исследовательских институтов, научных сотрудников и студентов высших учебных заведений, руководителей и специалистов предприятий и организаций, работающих в сфере озеленения городских территорий и ландшафтного дизайна, представителей общественных организаций экологической направленности, преподавателей средних специальных учебных заведений, общеобразовательных школ, представителей государственных и муниципальных органов власти.

© Администрация г. Владивостока, 2013

Микроклонирование декоративных древесных растений

Бабикова А.В., Гафицкая И.В., Корень О.Г., Музарок Т.И., Змеева В.Н., Пинкус С.А., Акимова Л.А., Баркалова О.К.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Биолого-почвенный институт ДВО РАН, г. Владивосток.

В последние годы на российском рынке посадочного материала наблюдается большая потребность в декоративных культурах, особенно красивоцветущих и декоративнолиственных. Это связано с бурным развитием коттеджного строительства и озеленением городов и посёлков. В России специализированных питомников растений пока недостаточно и возможности традиционных способов размножения ограничены, так как сортовой материал можно размножать только вегетативно для сохранения исходного генотипа растения. При вегетативном размножении цветение наступает раньше и сохраняется исходный генотип растения. Но большинство древесных пород плохо размножаются как вегетативно, так и с помощью прививок и плохо укореняются, что не обеспечивает достаточное количество посадочного материала в течение года.

Решением данной проблемы может быть применение биотехнологического метода клонального микроразмножения, в основе которого лежит уникальное свойство тотипотентности растительной клетки, т. е. способность растительной клетки под влиянием экзогенных факторов давать начало целому организму. Микроклональное размножение имеет значительные преимущества перед традиционными методами размножения растений, состоящие в возможности размножения растений с затрудненным семенным или вегетативным размножением, или представленных в единичных экземплярах; в высоком коэффициенте размножения (до 10^5 – 10^6 экземпляров в год от одного растения); в возможности культивирования растений круглый год; незначительных затратах площадей для стерильного выращивания растений; освобождении растительного материала от вирусных болезней; и, наконец, в возможности длительного хранения пробирочных растений при пониженных температурах, что позволяет создать банк генотипов ценных видов и форм [1].

Род *Rhododendron* (L.) – самый крупный в семействе вересковых. Он насчитывает свыше 1300 дикорастущих видов и около 1200 сортов. Рододендроны – это вечнозеленые, полувечнозеленые или листопадные кустарники, кустарнички, реже деревья. Они являются лекарственными, эфиромасличными, почвоукрепляющими и декоративными растениями [2, 3]. По многообразию форм и окраске цветков и листьев, по сохранению декоративного вида в любое время года они не имеют себе равных среди красивоцветущих кустарников, и поэтому часто используют в ландшафтном дизайне и озеленении городов. В России в естественных условиях встречается до 18 видов, главным образом на Кавказе, в Сибири и на Дальнем Востоке. К дальневосточным относятся 11 видов и 2 формы

рододендрона (например, *Rhododendron sichotense* Pojark, *Rhododendron schlippenbachii* Maxim, *Rhododendron fauriae* Franch) [4].

Широкое использование в озеленении представителей рода *Rhododendron* L., декоративных кустарников с яркими соцветиями, ставит задачу получения большого количества посадочного материала ценных сортов. Пионером в области применения микроклонирования для размножения рододендронов является питомник Бриггса (США), где около 30 лет назад была впервые подобрана питательная среда для культивирования рододендрона *in vitro* [5]. В настоящее время существует ряд методик для микроклонального размножения некоторых видов рододендрона, но получаемые результаты не всегда воспроизводимы и чаще всего противоречивы, так как индукция морфогенеза рододендрона зависит от многих факторов. Наиболее важными из них являются подбор исходного экспланта и соотношение концентраций фитогормонов в питательных средах. Методики, разработанные для одних форм и сортов, не всегда могут быть использованы для других [6-9].

В связи с этим целью данной работы является оптимизация этапов культивирования рододендрона пяти сортов для их эффективного микроклонального размножения.

Материалы и методы. Маточные растения 5 сортов рододендрона с разной окраской венчика были переданы ООО «Магия сада». Каждому сорту была присвоен свой номер. В качестве первичных эксплантов использовали черенки растущих побегов с 1-2 пазушными почками. Их стерилизацию проводили последовательной обработкой мыльно-щелочным раствором и 0.1%-ным диацидом с многократным отмыванием стерильной дистиллированной водой. В предварительном эксперименте была выявлена высокая инфицированность исходного материала (до 90% первичных эксплантов) внутренней бактериальной инфекцией. В связи с этим для эксплантов сорта № 1 была проведена дополнительная обработка 7%-ным раствором цефатоксима, в результате чего количество инфицированных эксплантов составило менее 1%. Для сорта № 4 цефотаксим ввели в питательную среду в концентрации 300 мг/л, что привело к подавлению бактериальной инфекции. Дальнейшее культивирование на питательной среде без антибиотика приводило к повторному выявлению инфекции и экспланты приходилось удалять. Для сортов № 2, № 3 и № 5 использовали повторное проведение стерилизации по первоначальной схеме и удаление инфицированных эксплантов.

После стерилизации черенки помещали вертикально на питательную среду для индукции побегов древесных видов растений WPM (Woody Plant Medium) [10] с добавлением 2-изопентениладенина (2иП) в концентрации 7, 8, 10 мг/л; 3-индолилуксусной кислоты (ИУК) – 4 мг/л; пиридоксина – 0.5 мг/л, никотиновой кислоты – 0.5 мг/л, глицина – 2 мг/л; сахарозы – 3 % и агара – 0.6 %.

Результаты. Через месяц культивирования у всех сортов отмечено начало развития пазушных почек на первичных эксплантах. Для

оптимизации концентрации фитогормонов в питательной среде поставлена серия опытов: концентрация 2иП варьировала от 4 до 10 мг/л, ИУК от 2 до 4 мг/л. В результате для исследованных сортов нами разработана питательная среда для пролиферации и элонгации микропобегов на основе WPM с добавлением 2иП и ИУК в соотношении 8:4.

Через 3 месяца культивирования отмечено начало образования множественных побегов (multi-shoots) у сортов № 1, № 2 и № 5. Это явление известно в культуре ткани древесных растений. Однако, при культивировании рододендронов *in vitro* оно характерно не для всех сортов.

При культивировании сортов № 3 и № 4 у большинства микропобегов, имеющих несколько междоузлий, была отмечена остановка в росте, побурение листьев и одревеснение стеблей, вплоть до гибели. При переносе побегов на разработанную нами питательную среду отмечена регенерация практически всех погибающих побегов. Через год культивирования, от момента первичной посадки, для сорта № 4 наблюдалось образование первых множественных побегов. У сорта № 3 многопобеговость отмечена к 10-му месяцу культивирования.

Сорт № 5 к февралю 2012 г. был утрачен в результате некроза. У оставшихся сортов многопобеговость не прекращается до настоящего времени.

Для укоренения микропобеги длиной от 0.8 до 1.0 см. пересаживали на питательную среду WPM с добавлением индолил-3-масляной кислоты (ИМК) в концентрации 1мг/л. Формирование и развитие корешков происходило в течение месяца.

На последнем этапе микроразмножения – адаптации и высадке микрорастений в почвогрунт, гибнет наибольшее их количество. Поэтому нами были оптимизированы условия перевода микроклонов в почвогрунт, с постепенной регуляцией влажности воздуха и субстрата в культуральных сосудах. В результате выживаемость микропобегов составила свыше 90%.

Таблица 1. Выход посадочного материала при микроклонировании четырех сортов рододендрона (2011-2013гг)

Сорт	Исходных эксплантов, шт.	Побегообра- зование <i>in</i> <i>vitro</i> , шт. пробирок*	Укорене- ние <i>in</i> <i>vitro</i> , шт.	В почвогрунте, шт.	Всего растений по сорту
№ 1	21 гибралт	315	440	665	1420
№ 2	52 феервер	200	1680	872	2752
№ 3	28 аннеке	260	380	667	1307
№ 4	7 долоро	165	260	190	615
Всего	108	940	2760	2394	6094

Примечание: * подсчет точного количества микрорастений в пробирке затруднен в связи с множественным побегообразованием.

Таким образом, в результате проведенных исследований подобраны условия стерилизации растительного материала при инициации *in vitro* культуры рододендрона пяти сортов. Установлено, что для пролиферации множественных побегов наиболее оптимальны концентрации фитогормонов 2иП и ИУК в питательной среде WPM в соотношении 8:4. В результате оптимизации процесса высадки микропобегов в почвогрунт выживаемость растений составила свыше 90%.

Библиографический список

1. Бутенко, Р. Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнология на их основе. – М.: ФБК-ПРЕСС, 1999. - 160 с.
2. Кондратович Р.Я. Рододендроны в Латвийской ССР. Рига: Зинатне, 1981.- 332 с.
3. Кутас Е.Н. Клональное микроразмножение рододендронов и их практическое использование. Минск Беларуская навука 2009г. 188 с.
4. Петухова И. П. Рододендроны на юге Приморья. Интродукция, культура / И. П. Петухова. – Владивосток: БСИ ДВО РАН, 2006. – 131 с.
5. Anderson, W.C., A revised tissue culture medium for shoot multiplication of rhododendron // J Amer Soc Hort Sci. 1984. V. 109. pp. 343-347.
6. Филипеня В.Л., Горбачевич В.И., Антипова Т.В. Микрклональное размножение *Rhododendron*×*Hybrydum* Hort // Физиол. и биохим. культ. раст. 2009. Т. 41 (6). С. 516-522.
7. Almeida A., Goncalves S. and Romano A. In vitro micropropagation of endangered *Rhododendron ponticum* L. subsp. *baeticum* (Boissier & Reuter) Handel-Mazzetti // Biodivers. Conserv. 2005. V. 14. pp. 1059–1069.
8. Nesterowicz S. Micropropagation of an old specimen of common lilac (*Syringa vulgaris* L.) from the Dendrological garden at Przelewice / S. Nesterowicz, D. Kulpa, K. Moder, J. Kurek // Acta Sci. Pol., Hortorum Cultus. – 2006. V. 5(1). pp. 27-35.
9. Jain et al. 2010 Protocols for In Vitro Propagation of Ornamental Plants, Methods in Molecular Biology vol. 589, 141-151
10. Lloyd, G and BH McCown. Commercially-feasible micropropagation of Mountain Laurel, *Kalmia latifolia*, by shoot tip culture // Proc. Int. Plant Prop. Soc. 1981. V. 30/ pp. 421-427