

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ
ЦЕНТРАЛЬНЫЙ БОТАНИЧЕСКИЙ САД



ЦВЕТОВОДСТВО: ИСТОРИЯ, ТЕОРИЯ, ПРАКТИКА

МАТЕРИАЛЫ VII МЕЖДУНАРОДНОЙ НАУЧНОЙ КОНФЕРЕНЦИИ
(24-26 МАЯ 2016 г., МИНСК, БЕЛАРУСЬ)

FLORICULTURE: HISTORY, THEORY, PRACTICE

PROCEEDINGS OF THE VII INTERNATIONAL SCIENTIFIC CONFERENCE
(MAY 24-26, 2016, MINSK, BELARUS)

МИНСК
«КОНФИДО»
2016

УДК 635.9(082)
ББК 42.374я43
Ц27

Редакционная коллегия:

В.В. Титок, д-р биол. наук (ответственный редактор, ЦБС НАН Беларуси);
Н.Л. Белоусова, канд. биол. наук (ЦБС НАН Беларуси);
И.К. Володько, канд. биол. наук (ЦБС НАН Беларуси);
Л.В. Гончарова, канд. биол. наук (ЦБС НАН Беларуси);
Л.В. Завадская, канд. биол. наук (ЦБС НАН Беларуси);
Н.М. Лунина, канд. биол. наук (ЦБС НАН Беларуси).

Ц27 **ЦВЕТОВОДСТВО: ИСТОРИЯ, ТЕОРИЯ, ПРАКТИКА = FLORICULTURE: HISTORY, THEORY, PRACTICE** : материалы VII Международной научной конференции (24-26 мая 2016, Минск, Беларусь) / редкол. : В.В. Титок [и др.] – Минск : Конфидо, 2016. – 411 с.
ISBN 978-985-6777-82-3.

В сборнике представлены материалы VII Международной научной конференции «Цветоводство: история, теория, практика». Материалы сгруппированы по следующим разделам: цветоводство в современном мире; коллекции цветочно-декоративных растений: вопросы формирования, изучения, экспонирования и использования; создание устойчиво-декоративных цветочных композиций в условиях урбанизированной среды; селекция и семеноводство цветочно-декоративных растений; технология выращивания и способы размножения цветочных культур, болезни и вредители цветочных культур, минимизация их негативного воздействия на растения. Среди авторов ученые Беларуси, России, Украины.

УДК 635.9(082)
ББК 42.374я43

ISBN 978-985-6777-82-3

© Центральный ботанический сад
НАН Беларуси, 2016

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ ПРИ РАЗМНОЖЕНИИ *HOSTA LANCIFOLIA* (THUNB.) ENGL.

Фоменко Т.И., Вайновская И.Ф., Филипеня В.Л.

Центральный ботанический сад НАН Беларуси, г.Минск, 220012, ул. Сурганова, 2В, fomenko_ti@mail.ru

Резюме. Биотехнологические методы позволяют расширить возможности производства посадочного материала хосты ланцетолистной (*Hosta lancifolia* (Thunb.) Engl.). Изучены условия регенерации побегов из различных эксплантов и разработан метод клонального микроразмножения культуры.

BIOTECHNOLOGICAL APPROACHES AT PROPAGATION OF *HOSTA LANCIFOLIA* (THUNB.) ENGL.

Fomenko T.I., Vaynovskaya I.F., Filipenia V.L.

Central Botanical Garden of NAS of Belarus, Minsk, 220012, ul. Surganova, 2B, fomenko_ti@mail.ru

Summary. Biotechnological techniques allow extending the possibilities of production of planting material of hosta (*Hosta lancifolia* (Thunb.) Engl.). The conditions for shoot regeneration from different types of explant were investigated and clonal micropropagation method for the culture was developed.

Хосты широко применяются в декоративном садоводстве и ландшафтном дизайне при создании декоративных групповых ансамблей клумб, рабаток, бордюров, крупные растения - прекрасные солитеры [1]. По своей популярности хоста не уступает красивоцветущим растениям и ценится не только за высокую декоративность листвы, но и за теневыносливость, морозоустойчивость, нетребовательность к почвам. Эту культуру с успехом выращивают в самых тёмных уголках сада. По некоторым данным в настоящее время известно около 40 видов и более 2000 сортов хосты [2]. Размножается хоста делением куста и черенкованием. Вегетативное размножение наиболее важно при сохранении сортовых признаков растения. Семенное размножение используют для получения растений с новыми формами, а также для размножения видов. При семенном размножении сеянцы хосты плохо растут, декоративные кусты формируются только на четвертый год, что значительно замедляет селекцию перспективных генотипов. Как показала практика последних десятилетий, эффективным методом решения данной проблемы является клональное микроразмножение, которое позволяет круглогодично массово размножать ценные сорта и интенсифицировать процесс селекции [3 - 5].

Для Беларуси быстрое размножение тенелюбивых интродуцентов является проблемой острой и необходимой, поскольку сортимент декоративных травянистых растений, которые могут высаживаться под пологом деревьев в парковых и рекреационных зонах, несомненно, требует расширения.

Нами осуществлены работы по оптимизации основных этапов клонального размножения *H. lancifolia*. Главным образом, исследования были сфокусированы на разработке схемы стерилизации различных эксплантов, изучении влияния на эффективность регенерации хосты типа и концентрации регуляторов роста, минерального состава среды, оптимизации процесса адвентивного корнеобразования.

На первом этапе клонального размножения необходимо получить стерильную культуру с высоким морфогенетическим потенциалом. В зависимости от целей исследования, первичными эксплантами могут служить семена, сегменты вегетативных и генеративных органов растения. Наряду с типом экспланта и составом питательной среды, важным моментом в процессе получения *in vitro* культуры является выбор оптимального стерилизующего соединения, способа обработки и времени экспозиции первичных эксплантов, от которых в дальнейшем зависит инфицированность и жизнеспособность растительного материала. Для стерилизации используют различные соединения, однако для каждого вида растений, а также типа иницирующих тканей, оптимальный режим стерилизации требует специальной разработки и устанавливается экспериментальным путем [6, 7].

Нами изучено действие различных антисептиков в стандартных (наиболее часто используемых в практике клонального микроразмножения) концентрациях, времени стерилизации и состава питательной среды (минерального и гормонального) на эффективность получения *in vitro* культуры растений *H. lancifolia*.

В экспериментах в качестве эксплантов при получении *in vitro* культуры были использованы семена и фрагменты черешков листьев с флаговой меристемой. Стерилизацию растительного материала осуществляли 0,1%-м раствором AgNO₃ (20 мин), 10%-м раствором хлорамина (15 мин, 25 мин, 30 мин), 10%-м раствором гипохлорита кальция (15 мин, 25 мин, 30 мин) и 0,1%-м раствором диацета (5 мин, 10 мин). Дополнительно для листовых черешков был применен вариант с последовательной стерилизацией в 0,01%-м растворе KMnO₄ (10 мин), затем в 0,1%-м растворе диацета (5 мин). Основной питательной средой являлась среда МС [8].

Во всех вариантах эксперимента прорастание семян наблюдали уже на 5-7-й день культивирования. Эффективность стерилизации семян зависела как от типа антисептика, так и продолжительности обработки. Стопроцентная стерильность эксплантов была достигнута при использовании 0,1%-го раствора AgNO₃ в течение 20 минут и 0,1%-го раствора диацета в течение 10 минут. Максимальный выход неинфицированного материала с использованием растворов хлорамина и гипохлорита кальция зафиксирован при 25-ти минутной обработке. Крайне важным

показателем при оценке эффективности системы стерилизации семян является их способность к прорастанию после обработок антисептиком. Нами установлено, что высокий процент всхожести для данного типа экспланта характерен при использовании диацида (обработка в течение 5 и 10 минут) и нитрата серебра. Применение гипохлорита кальция и хлорамина с экспозицией 15 минут способствовало достаточно высокому уровню жизнеспособности семян (более 60%), однако значительная часть из них была инфицирована. Более длительная обработка этими реагентами не только снизила процент контаминации, но также значительно уменьшила всхожесть семян.

В таблице 1 для каждого из стерилизующих агентов представлены результаты вариантов эксперимента, на которых было получено максимальное количество стерильных жизнеспособных проростков.

Таблица 1. Стерильность и всхожесть семян *H. lancifolia* в зависимости от схемы применения стерилизующих веществ

стерилизующее вещество	время стерилизации, мин.	стерильность материала, %	всхожесть семян, %
0,1% раствор нитрата Ag	20	100	78
10% раствор хлорамина	30	95	68
10% раствор гипохлорита Ca	25	91	26
0,1% раствор диацида	10	100	87

Исследование влияния регуляторов роста (БАП, НУК) на рост развитие проростков на этапе получения асептической культуры позволило установить следующее. Прорастание семян активнее происходило на средах, содержащих регуляторы роста. Через 6 недель культивирования более интенсивное развитие розеток отмечено на средах, содержащих 1 или 2 мг/л БАП. Добавление регуляторов роста с цитокининовой и ауксиновой активностью в сочетании 1:1 стимулировало образование морфогенного каллуса и способствовало индукции непрямого морфогенеза.

Нами также разработаны условия введения хосты в культуру *in vitro* фрагментами черешка листа (флаговой меристемой). Показано, что для данного типа экспланта максимальный процент жизнеспособных черешков получается при последовательной стерилизации в 0,01%-м растворе $KMnO_4$ в течение 10 минут, в 0,1%-м растворе диацида в течение 5 минут и культивировании на среде с добавлением 1 мг/л БАП. На этой среде через 3 недели после начала эксперимента на основании черешка листа наблюдали индукцию морфогенеза, главным образом геммогенеза. Через 6 недель культивирования из части меристематических структур образовались побеги.

При сравнении регенерационной активности эксплантов, культивируемых на средах с полной и половинной концентрацией солей и одинаковым уровнем регуляторов роста, значимых различий не выявлено.

С целью поддержания активно растущей *in vitro* культуры хосты и оптимизации ее размножения на этапе клонирования определено влияние регуляторов роста на эффективность морфогенеза. Черешки листьев полученной стерильной культуры помещали на питательные среды с различной концентрацией БАП и кинетина. Все среды были дополнены 0,2 мг/л НУК. Полученные результаты представлены в таблице 3.

Таблица 3. Влияние регуляторов роста с цитокининовой активностью на процесс побегообразования у хосты *H. Lancifolia*

Цитокинин, мг/л + 0,2 мг/л НУК	Коэффициент размножения, эксплант/розетка	Высота розетки, см	Образование корней +/-
0	1,3±0,4	3,2±0,2	+
БАП			
0,5	3,3±0,7	3,3±0,7	-
1,5	6,7±0,8	2,8±0,2	-
2,0	8,4±0,7	1,9±0,3	-
Кинетин			
0,5	2,7±1,1	2,7±0,2	+
1,5	3,0±0,8	2,5±0,6	-
2,0	2,9±1,3	2,4±0,9	-

Максимальный коэффициент размножения получен при культивировании эксплантов на среде с добавлением 2 мг/л БАП и 0,2 мг/л НУК, однако высота образующихся розеток на данном варианте среды была наименьшей. Дальнейший рост произошел после их переноса на среду без НУК и с уменьшенной концентрацией БАП (до 1 мг/л).

Таким образом, при клонировании хосты необходимо чередовать этап выращивания эксплантов на средах с БАП и НУК (индукция образование розеток) с этапом подраживания растений на среде, дополненной только БАП.

Оптимизированы условия адвентивного корнеобразования *in vitro* у исследуемых растений хосты. Для этого в среды культивирования были добавлены ИУК и ИМК в концентрациях 0,5 мг/л,

1 мг/л и 2 мг/л. Добавление ауксинов в разных концентрациях эффективно стимулировало процессы корнеобразования (таблица 4). На всех средах, дополненных ИМК и средах, содержащих 1,5 и 2,0 мг/л ИУК, наблюдали 100%-е укоренение черенков. Отсутствие регуляторов роста с ауксиновой активностью привело к укоренению только у половины растений. Наиболее развитая корневая система (наибольшее количество корней и наибольшая их длина) и отсутствие каллуса у основания черенка зафиксирована у эксплантов, выращиваемых с добавлением 0,5 мг/л ИМК. Мы рекомендуем данный вариант укоренения как оптимальный для использования в технологии клонального размножения хосты.

Таблица 4. Эффективность адвентивного корнеобразования у растений *H. lancifolia* в зависимости от типа и концентрации ауксинов

Концентрация ауксина, мг/л	Укоренение, %	Количество корней на растеньице, шт	Средняя длина корней, см	Каллус в основании побега, +/-
0	57,6	8,1±0,8	1,7±0,2	-
ИМК				
0,5	100	10,1±0,7	13,1±0,8	-
1,0	100	8,3±0,5	8,8±0,6	+
2,0	100	7,2±0,3	7,4±0,6	+
ИУК				
0,5	85,7	2,8±0,5	2,5±0,4	-
1,0	100	4,5±0,8	1,9±0,5	-
2,0	100	4,4±0,6	2,8±0,2	-

На основании проведенных исследований разработан протокол массового размножения растений *H. lancifolia*, позволяющий быстро клонировать ценные генотипы (первичный эксплант – основание черешка листа с флаговой меристемой), а также дающий возможность ускорения онтогенетического развития сеянцев и дальнейшего их тиражирования (первичный эксплант – семена), что особенно важно для интенсификации селекционного процесса этой культуры.

Список литературы:

1. Хими́на, Н.И. Хосты / Н.И. Хими́на // М. : Кладезь-Букс, 2005. - 95 с.
2. Вавилова, Л.П. Функии в Главном Ботаническом саду. Интродукция и приёмы культуры цветочно-декоративных растений / Л.П. Вавилова // М. : Наука, 1997. - 168 с.
3. Балабова Д.В., Соловьева В.В. Микроразмножение растений рода *Hosta*. Сборник научных статей по материалам 10-й международной научно-практической конференции «Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии», Барнаул, 24–27 октября 2011. - С. 311-313.
4. Калиженкова М.Д., Аш О.А., Лоскутова Н. Хоста: размножение in vitro, Цветоводство, 2002. - Вып. 6. - С. 10.
5. Цыренов, В.Ж. Основы биотехнологии: культивирование изолированных клеток и тканей растений, часть 2. Улан-Удэ : Восточно-сибирский ГТУ, 2003. - 276 с.
6. Калинин Ф.Л., Кушнир Г.П., Сарнацкая В.В. Технология микроклонального размножения растений. К. : Наук. Думка, 1992. - 228 с.
7. Шевелуха С.В., Калашникова Е.А., Воронин С.Е. Сельскохозяйственная биотехнология. М. : Высш.шк., 2003. - 435 с.
8. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. plant*, 1962. - № 15. - P. 473-497.