

Технология размножения плоскочеточника восточного (*Platycladus orientalis* (L.) Franco) для целей зеленого строительства в Ростовской области

Б.Л. Козловский, М.М. Серeda, Т.В. Вардуни, М.П. Богословенко

Зеленое строительство в степной зоне юга России остро нуждается в высокодекоративных и при этом устойчивых к климатическим и урбаногенным факторам растениях [1]. К таким относится *Platycladus orientalis*, который широко используется в качестве декоративного растения в регионах с умеренным климатом. Перспективность культуры *Platycladus orientalis* в степной зоне определяется высокой засухоустойчивостью, нетребовательностью к почвам и способностью переносить условия городской среды, в чем он превосходит близкий по эколого-биологическим свойствам, декоративным качествам и хозяйственному использованию вид – *Thuja occidentalis* L. [2].

Вместе с тем, в пределах общей территории культивируемых ареалов *Thuja occidentalis* существенно преобладает в озеленении над *Platycladus orientalis*, что, например, можно наблюдать в Ростове-на-Дону [3], а также других населенных пунктах Ростовской области. Это связано с тем, что исходная легко размножаемая форма *Platycladus orientalis* по декоративным качествам уступает таковой у *Thuja occidentalis*. Реальный сортимент *Platycladus orientalis*, также в несколько раз уступает сортименту *Thuja occidentalis*. При этом российские ботанические сады и питомники имеют в коллекциях и промышленно выращивают не более 3-4 сортов этого вида [4].

В настоящее время Ботанический сад ЮФУ располагает достаточным количеством высоко декоративных образцов *Platycladus orientalis* для обеспечения потребностей регионального зеленого строительства [5]. Однако, *Platycladus orientalis* при хорошем семенном размножении, вегетативно размножается плохо, исходя из литературных источников

технология микрклонального размножения этого вида не разработана [6, 7], что не позволяет интенсивно тиражировать его высоко декоративные формы и сорта.

Учитывая это и то, что в озеленении населенных пунктах степной зоны юга России *Platycladus orientalis* по устойчивости к климатическим, эдафическим и биотическим факторам не имеет альтернативы среди хвойных растений [8, 9], целью работы являлось: подбор оптимальных технологий размножения высокодекоративных форм и сортов *Platycladus orientalis* для регионального зеленого строительства.

Методика исследований

Для изучения особенностей семенного размножения *Platycladus orientalis* на территории Ботанического сада ЮФУ было отобрано четыре модельных образца растения, с которых осуществлялся сбор семян. Посевные качества семян определялись по стандартным методикам (ГОСТ13056.6-97) [10]. Определение наличия покоя у семян определялась в ходе холодной стратификации. Для этого семена в смеси с влажным песком содержались при температуре от 0 до 5 °С. Через каждые 10 дней часть семян вынималась и помещалась на проращивание при температуре 22...24 °С. Контролем служили семена не прошедшие стратификацию.

Для изучения особенностей вегетативного размножения *Platycladus orientalis* проводилось черенкование одревесневшими (весенними) и полуодревесневшими (летними) черенками соответственно 10 апреля и 20 мая. Для стимуляции укоренения использовались препараты «Корневин», содержащий индолилмасляную кислоту, и «Радифарм» в концентрации 0,3%. Состав препарата «Радифарм» следующий: общее количество органических веществ – 30,0%; полисахариды – 7,0%; стероид глюкозида – 0,2%; протеиновые полипептиды – 11,0%; свободные аминокислоты – 1,0%; витаминный комплекс – 0,04%; хелатное железо – 0,20%; хелатный цинк – 0,20%. Схема двухфакторного опыта с использованием этих препаратов приводится ниже (табл. 1).

Схема опыта по укоренению полуодревесневших черенков

Platycladus orientalis

A1 Контроль		A2 «Радифарм»	
B1 Контроль	B2 «Корневин»	B1 Контроль	B2 «Корневин»

Изучение возможности размножения платикладуса *in vitro* проводилось в соответствии с методикой микроклонального размножения голосеменных растений, в т.ч. представителей рода *Thuja* [11].

В качестве эксплантов были выбраны верхушки побегов размером около 2 см, взятые со взрослых экземпляров *Platycladus orientalis* (3-4 года) в конце февраля 2014 года. Побеги промывались в теплой мыльной воде 20 минут, затем отмывались в проточной воде. Последующие этапы стерилизации осуществлялись в условиях ламинар-бокса. Побеги обрабатывали в 70% растворе этанола – 1 мин, затем в 0,1% сулемы – 15 мин, после чего экспланты промывались трехкратно в стерильной дистиллированной воде по 15 минут.

Для введения в культуру *in vitro* использовалась среда Мурасиге-Скуга (МС) с добавлением 7 г/л агара, 30 г/л сахарозы, 6-бензиламинопурина (БАП) в концентрации 0,2 мг/л. На последующих этапах микроклонального размножения применялись модификации сред Мурасиге-Скуга с различным сочетанием фитогармонов. Ph среды доводился до значения 5,8 с помощью 1 М NaOH. Стерилизация сред проводилась в автоклаве при температуре 121 °С в течение 20 минут. Культура помещалась в условия 16-часового фотопериода при температуре 25 °С.

Результаты и обсуждение

Изучение посевных качеств семян *Platycladus orientalis*, отобранных с четырех образцов дали следующие результаты. Полнозерность семян, по образцам 1, 2, 3, 4 составляла: 76,9%; 52,3%; 82,4%; 31,4%. Масса 1000 семян

была равна соответственно: 14,10 г; 12,87 г; 19,02 г; 15,69 г. Всхожесть и энергия прорастания семян *Platycladus orientalis* представлены в таблице 2.

Таблица 2

Всхожесть и энергия прорастания семян *Platycladus orientalis*

Образец	Всхожесть, %	Энергия прорастания, %	Средняя продолжительность прорастания, сутки	Скорость прорастания, семян/сутки
1	96 ± 2,0	86 ± 3,5	7,5 ± 0,5	9,9
2	99 ± 1,0	58 ± 4,9	9,5 ± 1,0	9,3
3	87 ± 3,4	67 ± 4,7	8,3 ± 0,9	6,9
4	59 ± 4,9	0	16,7 ± 1,8	3,5

Установлено, что семена *Platycladus orientalis* не имеют органического покоя. Вместе с тем, холодная стратификация, продолжительностью не более 30 суток повышает скорость прорастания семян, что важно при выращивании сеянцев этого вида в промышленном разведении (табл. 3, 4).

Таблица 3

Всхожесть и энергия прорастания семян *Platycladus orientalis* в зависимости от продолжительности холодной стратификации

Продолжительность стратификации, сутки	Всхожесть на 20 суток, %	Всхожесть на 30 суток, %	Энергия прорастания, %
0	59 ± 4,9	86 ± 3,5	0
10	60 ± 4,9	100 ± 1,0	2 ± 1,4
20	63 ± 4,8	87 ± 3,4	19 ± 3,9
30	62 ± 4,8	92 ± 2,7	12 ± 3,2
40	34 ± 4,7	75 ± 4,3	5 ± 2,2

Таблица 4

Продолжительность, период и скорость прорастания *Platycladus orientalis* в процессе холодной стратификации.

Продолжительность стратификации,	Продолжительность прорастания,	Средняя продолжительность	Период прорастания,	Скорость прорастания
----------------------------------	--------------------------------	---------------------------	---------------------	----------------------

сутки	сутки	прорастания, сутки	сутки	ия, семян, сутки
0	36	16,7 ± 1,8	26	3,5
10	36	21,4 ± 2,3	27	6,0
20	32	17,3 ± 1,3	25	5,0
30	25	17,2 ± 1,5	20	6,8
40	27	18,8 ± 2,0	20	5,4

Таким образом, регулярное и обильное семеношение, высокие посевные качества семян, устойчивость сеянцев к заболеваниям делает семенное размножение несортных образцов основным способом разведения. Семенное размножение сортов возможно с последующим отбором экземпляров, соответствующих исходному образцу. Наиболее это подходит для форм *Aurea*, когда сеянцы могут быть отобраны по окраске. Так среди сеянцев *Platyclusus orientalis* cv. *Pyramidalis Aurea* доля сеянцев с окраской *aurea* в зависимости от года может составлять от 57 до 90%. Однако эти сеянцы сильно варьируют по форме кроны и размерам. Поэтому вегетативное размножение культиваров и разработка его методов является важной задачей региональной дендрологии.

Установлено, что оптимальными сроками вегетативного размножения *Platyclusus orientalis*, является первая декада апреля. При этом, обработка черенков препаратом «Корневин» способна значительно повышать процент укоренения (табл. 5). Кроме того, «Корневин» существенно повышает количество образовавшихся корней в расчете на один черенок. При совместном действии препаратов «Радифарм» и «Корневин» суммарная длина корней повышается в два раза.

Таблица 5

Влияние препаратов «Радифарм» и «Корневин» на укоренение черенков

Platyclusus orientalis (доверительные интервалы при $P = 95\%$)

Признак	Вариант опыта
---------	---------------

	Контроль	«Радифарм»	«Корневин»	«Радифарм» + «Корневин»
Укоренение, %	35,4 – 55,0	38,0 – 58,0	42,3 – 62,3	69,1 – 85,1
Количество корней	1 – 2	1 – 2	2 – 5	5 – 9
Длина корня, мм	44 – 84	48 – 68	21 – 33	24 – 32
Суммарная длина корней, мм	69 – 129	85 – 125	81 – 121	170 – 230

Применение технологии микроклонального размножения снимает ряд проблем, связанных с семенным размножением, в частности возможности тиражирования высокодекоративных форм и сортов.

Развитие побегов в условиях культуры *in vitro* было отмечено на 3 неделе выращивания на среде МС с добавлением 0,2 мг/л БАП. Побеги выросли в длину в среднем на 30 %. На 5-й неделе в условиях той же питательной среды на побегах замечено появление многочисленных почек. В среднем на каждом побеге сформировалось около 30-40 почек. В результате последующих пассажей на свежую среду МС с той же концентрацией фитогармонов, почки развивались в побеги, пригодные для укоренения.

Пересадка адвентивных побегов на среду с более высокой концентрацией фитогармонов (БАП 0,5-2 мг/л) индуцирует каллусообразование и ингибирует рост всех побегов, образующихся на экспланте. На наш взгляд, целесообразно чередование в пассажах питательных сред с фитогармонами и сред свободных от фитогармонов. Так пересадка адвентивных почек на среду без фитогармонов обеспечила развитие нормальных побегов платикладуса, на которых затем снова можно индуцировать развитие адвентивных побегов.

Кроме того, была предпринята попытка непрямого клонирования [12] платикладуса. Это подразумевает целенаправленный процесс калусообразования, затем индукцию соматического эмбриогенеза и получение регенерантов.

Наиболее эффективным сочетанием фитогармонов для образования каллуса на среде МС оказались БАП (2 мг/л) и 2,4 дихлорфеноксиуксусная кислота (2,4 Д) (0,08 мг/л). При этом экспланты экспонировались в темноте в течение 6 недель. Каллусная ткань бесцветная, сахаристая, имеет рыхлую структуру. Каллусогенез на свету удалось провести благодаря воздействию трех фитогармонов, а именно, БАП (2 мг/л), индолилуксусная кислота (ИУК) (0,2 мг/л) и 2,4 Д (0,01 мг/л). Каллус образовывался на 5-6 неделю выращивания в виде плотной светло-зеленой ткани.

Каллусные культуры, полученные двумя путями помещались на среду МС с добавлением БАП в концентрации 0,2 мг/л и экспонировались на свету. Каллус, образованный в темноте, дифференцировался быстрее и продуктивнее, чем образцы каллуса, выращенные на свету.

Получаемые в процессе микроклонального размножения новые побеги нуждаются на заключительном этапе асептического культивирования в образовании корневой системы. Ризогенез у мериклонов проводили на $\frac{1}{2}$ среде МС с добавлением 5 мг/л ИУК. На второй неделе культивирования отмечали появление придаточных корней, а к 6 неделе переводили регенеранты в условия теплицы.

Заключение

При промышленном разведении *Platycladus orientalis* в зависимости от свойств маточных образцов и требований к конечной продукции рекомендуется следующие методы размножения:

Для несортных образцов, при использовании полученной генерации для мелиоративных целей – семенное размножение, после короткой (25-30 суток) холодной стратификации;

Для сортов и декоративных форм, при использовании полученной генерации в озеленении населенных пунктов – а) весеннее черенкование одревесневшими черенками с использованием индолилмасляной кислоты, б) микроклональное размножение *Platycladus orientalis* наиболее эффективно проводить прямым способом – путем индукции адвентивных побегов на

среде МС с добавлением 0,2 - 0,5 мг/л БАП. Полученные мериклоны хорошо укореняются на среде с добавлением ИУК в концентрации 5 мг/л.

Литература:

1. Козловский, Б.Л., Куропятников М.В., Федоринова О.И. Приоритетные задачи зеленого строительства в Ростове-на-Дону [Электронный ресурс] // «Инженерный вестник Дона», 2013, №1. – Режим доступа: <http://ivdon.ru/magazine/archive/n1y2013/1552> (доступ свободный) – Загл. с экрана. – Яз. рус.

2. Козловский, Б.Л., Огородникова Т.К., Куропятников М.В., Федоринова О.И. Ассортимент древесных растений для зеленого строительства в Ростовской области [Текст]: Монография / Б.Л. Козловский, Т.К. Огородникова, М.В. Куропятников, О.И. Федоринова – Ростов-н/Д: Изд-во ЮФУ, 2009. – 415 с.

3. Похилько, Л.О., Козловский Б.Л. Ассортимент древесных растений Ростова-на-Дону и пути повышения его разнообразия [Текст] // Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Естественные науки, 2008. – №5. – С. 66-69.

4. Карпун, Ю. Н. и др. Каталог культивируемых древесных растений Северного Кавказа [Текст]: Монография / Ю. Н. Карпун и др. – Сочи, 2002. – 98 с.

5. Козловский, Б.Л., Куропятников М.В., Корнева Ю.Ю. Перспективы культуры *Platycladus orientalis* (L.) Franco в Ростовской области. [Текст] // Всероссийская научная конференция «Дендрология в начале XXI века»: труды. СПб.: Изд-во Политехн. у-та, 2010. С. 101-103.

6. Bonga J.M. In vitro culture of tree [Text]: Monograph / Bonga J.M. – Berlin, 1992. – 238 p.

7. Harry, I.S., Thorpe T.A. Micropropagation of Cedar (*Thuja* spp.) [Text] / High-Tech and Micropropagation II Biotechnology in Agriculture and Forestry. 1992. – V. 18. – P. 82-95.

8. Козловский, Б.Л., Куропятников М.В., Федоринова О.И. Основной и дополнительный ассортимент древесных растений для зеленого строительства на юго-западе ростовской области [Электронный ресурс] // «Инженерный вестник Дона», 2013, №2. – Режим доступа: <http://ivdon.ru/magazine/archive/n2y2013/1633> (доступ свободный) – Загл. с экрана. – Яз. рус.

9. Горбок, В.М., Дерюжин Р.И. Хвойные породы в условиях Ростовской области [Текст]: Монография / В.М. Горбок, Р.И. Дерюжин. – Ростов н/Д.: Изд. Ростовского университета, 1987. – 112 с.

10. Новосельцева, А.И. Справочник по лесосеменному делу [Текст]: Монография / А.И. Новосельцева. – М.: Лесная промышленность, 1978. – 336 с.

11. Katy, A., Trevor A. Thorpe In vitro shoot multiplication of eastern white cedar (*Thuja occidentalis*) [Text] / In vitro Cell.dev. Biol., 1993. – P. 65-71.

12. Бутенко, Р.Г. Тотипотентность растительной клетки и культура тканей. [Текст]: Монография / Р.Г. Бутенко. – М., 1970. – С.84-92.