

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«РОССИЙСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ –
МСХА имени К.А. ТИМИРЯЗЕВА»
(ФГБОУ ВО РГАУ – МСХА имени К.А. ТИМИРЯЗЕВА)

На правах рукописи

Ахметова Лилия Рафисовна

**СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ КЛОНАЛЬНОГО
МИКРОРАЗМНОЖЕНИЯ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *HYDRANGEA* L.**

Специальность: 4.1.4. Садоводство, овощеводство, виноградарство и
лекарственные культуры

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата сельскохозяйственных наук

Научный руководитель:
доктор сельскохозяйственных наук,
профессор,
Раджабов Агагомед Курбанович

Москва – 2024

Оглавление

Введение	5
Глава 1 Обзор литературы	11
1.1 История и распространение рода <i>Hydrangea</i> L.....	11
1.2 Народно-хозяйственное и декоративное значение рода <i>Hydrangea</i> L.	15
1.3 Систематика рода <i>Hydrangea</i> L.	17
1.4 Морфо-биологические и экологические особенности видов рода <i>Hydrangea</i> L.	18
1.5 Агротехника выращивания представителей рода <i>Hydrangea</i> L.....	20
1.6 Болезни и вредители представителей рода <i>Hydrangea</i> L.	26
1.7 Размножение представителей рода <i>Hydrangea</i> L.....	28
1.8 Культивирование рода <i>Hydrangea</i> L. в условиях <i>in vitro</i>	30
1.8.1 История развития клонального микроразмножения представителей <i>Hydrangea</i> <i>L.</i>	30
1.8.2 Длительное сохранение представителей рода <i>Hydrangea</i> L. в культуре <i>in</i> <i>vitro</i>	38
1.8.3 Современная селекция <i>Hydrangea</i> L. с применением биотехнологических методов	40
1.8.4 Использование гидропонных установок для адаптации регенерантов <i>ex</i> <i>vitro</i>	45
1.9 Влияние спектрального состава света на рост и развитие растений	48
Глава 2 Материалы, методика и условия проведения опыта.....	51
Глава 3 Результаты исследований.....	68
3.1 Подбор стерилизующих агентов при введении в стерильную культуру <i>in vitro</i> представителей рода <i>Hydrangea</i> L.....	68

3.2 Совершенствование элементов технологии клонального микроразмножения растений рода <i>Hydrangea</i> L. на этапе собственно микроразмножения.....	72
3.2.1 Подбор оптимального минерального состава питательных сред.....	72
3.2.2 Изучение морфогенетического потенциала представителей рода <i>Hydrangea</i> L. при применении регуляторов роста	74
3.2.3 Изучение морфогенетического потенциала представителей рода <i>Hydrangea</i> L. при применении различных источников углеводного питания	86
3.2.4 Определение условий длительного депонирования представителей рода <i>Hydrangea</i> L.	90
3.3 Изучение влияния типа и концентрации ауксинов в составе питательной среды на этапе ризогенеза представителей рода <i>Hydrangea</i> L.	93
3.4 Совершенствование элементов технологии клонального микроразмножения растений рода <i>Hydrangea</i> L. на этапе адаптации к условиям <i>ex vitro</i>	96
3.4.1 Подбор оптимального состава субстрата для адаптации микрорастений к нестерильным условиям	96
3.4.2 Подбор субстрата для адаптации растений гортензии с использованием гидропонной установки	98
3.5 Изучение действия досветки узкоспектральным светом на растения - регенеранты представителей рода <i>Hydrangea</i> L.....	103
3.5.1 Влияние досветки на биохимические и морфометрические показатели листьев растений-регенерантов	103
3.5.2 Последствие досветки на зимостойкость гортензии крупнолистной в условиях открытого грунта	109
Глава 4. Экономическая эффективность адаптации посадочного материала представителей рода <i>Hydrangea</i> l. в условиях гидропонной установки	112
Заключение.....	116

Список сокращений и условных обозначений	118
Список литературы	119
Приложения	137
Приложение А	137
Приложение Б	138
Приложение В	139
Приложение Г	140
Приложение Д	143
Приложение Е	144

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследований. В настоящее время правительство Российской Федерации создает условия для устойчивого развития агропромышленного комплекса страны. Это является особенно актуальным в связи со сложившейся экономической ситуацией и реализацией принятой концепции импортозамещения. Действующая Федеральная научно-техническая программа развития сельского хозяйства на 2017 - 2025 годы затрагивает, в том числе, и отрасль декоративного питомниководства. При этом для ее эффективного развития основополагающим фактором является правильный подбор ассортимента декоративных растений, которые должны быть востребованы в системе озеленения урбанизированных территорий.

Гортензия входит в группу широко известных цветочно-декоративных многолетников и является одной из наиболее востребованных культур в озеленении и часто используемых в составе ландшафтных композиций декоративных кустарников.

Культура гортензии положительно зарекомендовала себя на отечественном рынке посадочного материала. Поэтому возникает объективная необходимость получения большого количества высококачественных саженцев. Клональное микроразмножение является одним из основных современных методов решения этой проблемы для большинства представителей растительного мира. Виды и сорта гортензии не являются исключением, поскольку применение традиционных методов вегетативного размножения может обеспечить получение существенно меньшего количества саженцев, а генеративный способ актуален исключительно при размножении видовых форм. Таким образом, для увеличения эффективности производства большого количества генетически однородного высококачественного посадочного материала в течение всего года не теряет

актуальности совершенствование основных этапов технологии размножения сортов *Hydrangea* в условиях *in vitro*.

Степень разработанности темы. Вопросам производства высококачественного посадочного материала представителей рода *Hydrangea* L. уделяется большое внимание как отечественными, так и зарубежными исследователями. 1987 году Т.К. Sebastian и С.W. Heurser впервые разработали протокол микроразмножения *Hydrangea quercifolia* Bart. J. Adelberg и Šiško M. в 2006 году изучали особенности получения асептической культуры *Hydrangea macrophylla*. Особенности культивирования гортензии в условиях *in vitro* были изучены следующими учеными: Леонардом Штольцом, Abou Dahab, L. Voccon-Gibod, E. Sacco, В.И. Маляровская, J. Xiao. Сортоизучение и селекция велась учеными: S.M. Reed, T.A. Rinehart, N. Kudo, Y. Niimi, Y. Kitamura, M. A. Dirr, J. Renault, T. G. Ranney, A. Schoemaker, К. Максимович.

Вместе с тем, в настоящее время вопросы клонального микроразмножения освещены не в полной мере. Технология требует совершенствования и доработки, особенно на этапах собственно микроразмножения и адаптации. Изучение этапа адаптации растений- регенерантов к нестерильным условиям требует особого внимания, так как от этого этапа зависит выход жизнеспособного качественного посадочного материала. Разработка способов сохранения растений в культуре *in vitro* позволит поддерживать генетический банк растений для дальнейшего изучения культуры. Совершенствование элементов технологии производства посадочного материала гортензии методом клонального микроразмножения с последующей адаптацией и доращивания саженцев имеет важное значение для производства качественного посадочного материала в больших количествах.

Цель исследований - оптимизация элементов технологии клонального микроразмножения современных перспективных сортов гортензии для увеличения объемов производства посадочного материала.

Задачи исследований:

1. Оптимизировать составы питательных сред на этапах собственно микроразмножения и укоренения при культивировании в условиях *in vitro* представителей рода *Hydrangea* L.;
2. Изучить возможность длительного хранения микрорастений гортензии в условиях замедленного роста с использованием ретардантов;
3. Разработать способы повышения эффективности этапа адаптации для регенерантов представителей рода *Hydrangea* L. с применением гидропоники;
4. Изучить влияние дополнительного освещения светом различного спектрального состава на некоторые биохимические и морфологические показатели листьев регенерантов и последствие этого приема на повышение зимостойкости *Hydrangea macrophylla* Thunb.;
5. Дать оценку экономической эффективности приема адаптации посадочного материала, выращенного способом клонального микроразмножения.

Научная новизна исследований. Впервые на основе выявления особенностей влияния различного состава питательных сред установлены оптимальные из них для реализации морфогенетического потенциала сортов гортензии и увеличения выхода посадочного материала. Впервые установлены особенности влияния дополнительного освещения узкоспектральным светом на биохимические и морфологические показатели листьев растений-регенерантов и выявлено последствие этого приема на зимостойкость растений гортензии крупнолистной в условиях открытого грунта. Впервые установлены особенности влияния применения гидропонной установки при адаптации растений-регенерантов гортензии к нестерильным условиям.

Теоретическая и практическая значимость исследовательской работы. В ходе исследований установлены особенности производства посадочного материала методом клонального микроразмножения сортов *Hydrangea macrophylla* Thunb., *Hydrangea paniculata* Siebold, *Hydrangea arborescens* L. Подобраны виды стерилизующих агентов и их длительность экспозиции. Выявлены оптимальный

минеральный и гормональный составы питательных сред на этапах собственно микроразмножения и укоренения. Изучены особенности адаптации исследуемых объектов к нестерильным условиям с применением гидропонной установки. Изучены особенности гормонального аспекта влияния узкоспектрального состава света на устойчивость представителей рода *Hydrangea* L. к кратковременному охлаждению в условиях *in vitro*. Показана возможность применения депонирования в условиях *in vitro* представителей рода *Hydrangea* L. с использованием ретардантов. Доказана высокая экономическая эффективность разработанных приемов при производстве высококачественного посадочного материала гортензии.

Полученные результаты могут быть использованы в учебном процессе в качестве дополнительного материала по теме: «Способы вегетативного размножения декоративных растений», а также в учебном процессе при проведении лекционных и лабораторно-практических занятий по дисциплинам: «Декоративное питомниководство», «Технологии размножения декоративных растений».

Методология и методы исследований. В исследованиях использовали методику биотехнологических исследований с культурами изолированных тканей и органов растений, основываясь на общепринятых классических приемах (Бутенко, 1999). Исследования проводили на базе РГАУ-МСХА им. К. А. Тимирязева, изучение способов клонального микроразмножения проводили в лаборатории биотехнологии растений ФГБУН ГБС им. Н.В. Цицина РАН. Изучение влияния досветки на развитие регенерантов проводили совместно с лабораторией физиологии и иммунитета растений ГБС РАН. Рабочие гипотезы (научные предположения) были сформулированы, исходя из анализа источников литературы, опыта лабораторных и полевых исследований.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Усовершенствованная технология получения посадочного материала методом клонального микроразмножения на этапах введения в культуру,

собственно микроразмножения, укоренения микропобегов, адаптации к нестерильным условиям;

2. Применение дополнительного освещения растений-регенерантов светом различного спектрального состава с целью повышения зимостойкости гортензии крупнолистной;

3. Оптимизированный способ адаптации растений-регенерантов в условиях гидропоники.

Степень достоверности экспериментальных данных. Достоверность результатов исследования подтверждается достаточным количеством экспериментов, современными методами исследования, которые соответствуют поставленным в работе целям и задачам. Статистическая обработка результатов исследований проведена согласно методике Б.А. Доспехова (Доспехов, 2011) и А.В. Исачкина (Исачкин и Крючкова, 2019). Полученные результаты обработаны с помощью программного обеспечения Microsoft Office Excel 2017, программ PAST 4.0 (PAleontological STatistics) и Teledyne Lumenera Infinity Analyze-7.

Апробация результатов исследований. Основные положения диссертации доложены, обсуждены и одобрены на конференциях: Второй международной научной конференции «Цветоводство: теоретические и практические аспекты» (г. Ялта, 2020 г.); Международной научной конференции молодых ученых и специалистов, посвященной 135- летию со дня рождения А. Н. Костякова, (г. Москва, 2022 г.); Международной научной конференции молодых учёных и специалистов, посвящённой 180-летию со дня рождения К.А. Тимирязева (г. Москва, 2023г.); Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы биологии, селекции и агротехники садовых культур» в честь 100-летия со дня рождения академика Г. И. Тараканова (г. Москва, 2023г.); Всероссийской с международным участием научной конференции молодых ученых и специалистов, посвященной 155- летию со дня рождения Н.Н. Худякова (г. Москва, 2021 г.); Всероссийской научно- практической конференции «Биотехнологические исследования на современном этапе развития сельскохозяйственной науки и

практики: новые подходы, направления, методы и технологии» (г. Москва, 2019 г.); Всероссийской научно- практической конференции с международным участием «Ботанические сады в XXI веке: сохранение биоразнообразия, стратегия развития и инновационные решения», посвященная 20- летию образования Ботанического сада НИУ «БелГУ» (г. Белгород, 2019 г.).

Публикации результатов исследований. По материалам диссертационного исследования опубликовано 10 печатных работ, в том числе 2 публикации в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ.

Личный вклад автора. Автором лично проведены все исследования, анализ и статистическая обработка экспериментальных данных, подготовка научных публикаций и докладов, написание диссертационной работы.

Структура и объём диссертации. Диссертация изложена на 144 страницах, состоит из введения, основной части, содержащей 18 таблиц, 70 рисунков, заключения, списка литературы, включающего 169 источников, в том числе 120 на иностранном языке.

ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 История и распространение рода *Hydrangea* L.

Представители рода *Hydrangea* L. распространены как в умеренных, так и в тропических регионах Восточной Азии, Северо-Восточной Америки и Южной Америки. Среди этих видов наиболее распространен *Hydrangea macrophylla* (Thunb.) Ser., происходящий из Южного Китая и Японии (Kardos et al., 2009; Nesi et al., 2013).

Считается, что первые представители рода *Hydrangea* L. входят в состав флоры мелового периода мезозойской эры. Ископаемый вид под названием *Hydrangea alaskana* Hollick был обнаружен на горе Джау на Аляске (США), из участка породы, относящегося к палеогеновому периоду (охватывает период от 66 до 23 миллионов лет назад). Множество окаменелостей обнаруживают в Азии, где этот вид впервые начали культивировать тысячи лет назад (Mustoe, 2002; Abe & Ohtani, 2013).

В Северной Америке в диком виде произрастают 2 вида гортензии - *Hydrangea arborescens* L. и *Hydrangea quercifolia* Bartram, которые положили начало распространению культуры. *H. arborescens* была интродуцирована в Европу из Северной Америки в 1736 году Джоном Бартрамом, что сделало ее первым видом гортензии, культивируемым на этом континенте, причем это произошло еще до того, как род получил свое официальное название. Название «hydrangea» было впервые использовано Иоганном Фридрихом Гроновиусом для описания *H. arborescens* во «Flora Virginica», а позже использовалось Линнеем для того же вида в «Species Plantarum» (Church, 2001; Sherwood, 2020). Руис и Павон впервые описали южноамериканские гортензии в 1789 году, отнеся их к роду *Cornidia*. *H. quercifolia* была впервые описана Уильямом Бартрамом в 1791 году (Sherwood, 2020).

История *H. macrophylla* в Европе началась с первой французской кругосветной экспедиции, которой руководил Луи-Антуан де Бугенвилль. Благодаря стараниям медика и ботаника Филибера Коммерсона этот вид получил название, которое широко используется и в настоящее время (Шведе, 1961).

7 ноября 1768 года французская экспедиция прибыла на остров Маврикий в Индийском океане. Коммерсон расположился в поместье управляющего островом Пуавра – основателя одного из первых ботанических садов в южном полушарии. В парке при поместье Коммерсон впервые увидел еще пока малоизвестный кустарник и сразу оценил его декоративные свойства. Привезенное из Китая растение во время цветения покрывалось большими шаровидными голубыми и розовыми соцветиями. Ученый назвал неизвестный вид «гортензия», что является производным от латинского слова «hortus» (сад). В те времена это было довольно распространенное женское имя. Поэтому до сих пор ведутся споры о том, в честь кого было названо растение: сестры принца Карла Генриха Нассау-Зигена, который принимал участие в экспедиции и не раз восторженно рассказывал Коммерсону о своей родственнице, или в честь Николь-Рейн Гортензии Лепот – первой французской женщины-математика и астронома. Позднее европейские ботаники дали растению официальное название «*Hydrangea macrophylla*» (гортензия крупнолистная), которое является производным от греческих слов «hydor» - вода и «angeion» - сосуд. Таким образом, ученые подчеркнули биологические характеристики культуры относительно наличия влаги в почве (Сокольский, 2006; Маляровская, 2011).

Распространение гортензии началось в 1788 году, когда сэр Джозеф Бэнкс привозит из Японии крупнолистные гортензии под названием «*Hydrangea hortensis*» (McClintock, 1957). Огромный вклад в развитие культуры привнес врач и ботаник Филипп Франц фон Зибольд. Он стал первым ученым, выявившим разнообразие японской гортензии и описавшим несколько новых видов. Зибольд пробыл в Японии шесть лет, с 1823 по 1829 год. В 1828 году, еще находясь в Нагасаки, он опубликовал свою первую и единственную ботаническую

монографию под названием «Synopsis Hydrangeae Generis Specierum» (Jarrett, 1993; Ohba & Akiyama, 2013). До публикации работы Зибольда было зарегистрировано всего пять видов гортензии ботаником Карлом Питером Тунбергом, который сначала ошибочно отнес растения к роду *Viburnum* L. (калина) (Пилипенко, 1954). Интерес к гортензии Зибольда сохранился и после того, как он покинул Японию. Позже он в совместной работе с Йозефом Герхардом Цуккарини описал и проиллюстрировал многие виды. Зибольд опубликовал восемь новых видов и четыре новых внутривидовых таксона в 1828 году, а затем вместе с Цуккарини, в 1839 и 1841 годах, описал еще восемь новых видов и один внутривидовой таксон. В конечном итоге ученые описали 15 видов и пять разновидностей гортензии (Ohba & Akiyama, 2013).

В 1859 году русский ботаник и академик Санкт-Петербургской академии наук Карл Иоганн Максимович был отправлен императором Александром II в Японию для изучения растений. Из экспедиции ученый привез более 400 растений, которые были интродуцированы в сады Санкт-Петербурга. В 1867 году он опубликовал свое исследование, посвященное азиатским гортензиям (Maximowicz, 1867; Сокольский, 2006).

Hydrangea anomala D.Don, *Hydrangea aspera* Buch. - Nam. ex D.Don и *Hydrangea heteromalla* D.Don были интродуцированы в 19 веке в Европе двумя ботаниками-энтузиастами: Фрэнсисом Бьюкененом и Натаниэлем Уолличем (McClintock, 1957).

В 1879 году английский ботаник и коллекционер растений Чарльз Мэрис, которого компания James Veitch & Sons (ныне знаменитый английский питомник «Veitch» в Челси) отправила на поиски новых растений в Японию, Китай и Тайвань, обнаружил более 500 новых видов, которые впоследствии были интродуцированы в Англию. На основе этих видов были впервые получены 2 сорта гортензии крупнолистной: *Mariesii* и *Rosea*. В 1901 года эти сорта были представлены на выставке в Париже, где имели колоссальный успех. Французские садоводы с энтузиазмом приступили к выведению новых сортов (Veitch, 1907; Lawson-Hall &

Rothera - Portland, 2005). Селекционер Виктор Лемуан создал сорта серии «*Mariesii*» ('*Mariesii Perfecta*', '*Mariesii Lilacina*', '*Mariesii Grandiflora*' и др.) от свободного опыления (Sukhikh et al., 2018). Исторически сложилось так, что селекция гортензий включала внутривидовые скрещивания *H. macrophylla*, *Hydrangea paniculata* Siebold или *Hydrangea serrata* Ser. Межвидовые скрещивания внутри рода привели к минимальному успеху. Из трех вышеупомянутых видов основное внимание уделялось селекционной работе над *H. macrophylla*. Начальные этапы селекции культуры были сосредоточены на выведение сортов с оптимальным размером и новой окраской цветка. Сорта, выведенные в первом десятилетии 19 века селекционерами Лемуаном, Муйе, Нанси, Вандомом имели существенный недостаток, который заключался в высоких слабых побегах, не способных удерживать соцветия без опоры. Селекция была направлена на создание невысоких компактных кустов, способных рано формировать цветочные почки. Сорта, полученные французскими (Кэ, Домото) и немецкими (Винтергаленом, Фишером) селекционерами отвечали этим критериям (Gelderen & Gelderen, 2004; Kardos, 2006; Маляровская, 2011).

В 2001 году произошло событие, открывшее новые перспективы в селекции гортензий. В питомнике «Bailey Nurseries» в Сент-Поле, штат Миннесота была обнаружена первая ремонтантная (цветущая на побегах прошлого и текущего года) гортензия, которая дала начало сортосерии повторно цветущих гортензий «Endless Summer». В последующим в 2020 году Тимом Вудом была представлена сортосерия «Let's Dance Can Do!», которая отличалась еще большей способностью к повторному цветению.

В настоящее время селекция гортензии продолжается. Основные критерии для создания новых сортов *H. macrophylla*, включают: способность к повторному цветению (ремонтантность), нестандартный тип соцветия, необычную окраску цветков, усиленный аромат, улучшенную осеннюю окраску листьев, пигментированные стебли, устойчивые к полеганию побеги, компактный габитус, повышение морозостойкости и засухоустойчивости, устойчивости к болезням и

вредителям (Kardos, 2006). В 2023 селекционное подразделение «Bailey Nurseries» представили миру уникальный сорт «Endless Summer 'Pop Star'», который отличается компактными размерами, чрезвычайно обильным цветением, высокой интенсивностью повторного цветения и морозостойкостью (выдерживает температуру до -25°C). При этом если цветочные почки этого сорта подвергнутся чрезмерному влиянию холода или колебаниям температуры и погибнут, следующий весной куст образует новые и будет цвести летом (Dolce, 2024).

1.2 Народно-хозяйственное и декоративное значение рода *Hydrangea* L.

Первые упоминания об использовании *Hydrangea* L. были зафиксированы еще в древнем Китае (Mallet et al., 1992). Различные виды этой культуры использовали в медицинских целях по всей Восточной Азии и на юго-востоке Северной Америки (Sherwood, 2020). Коренные американцы использовали корень как мочегонное и детоксикационное средство. Кора гортензии использовалась для облегчения мышечных растяжений и ожогов и до сих пор используется как тонизирующее растение для лечения проблем с мочевым пузырем и камней в почках (Pratheeksha, 2022).

H. serrata употребляется в качестве чая в Корее и Японии. Известно, что экстракт этого растения помогает лечить ожирение и фотостарение. Данный вид содержит биологически активные вещества: гидрангенол, макрофиллозид, филлодульцин, которые оказывают противоаллергическое, противогрибковое, противовоспалительное, антидиабетическое и антиангиогенное действие (Zhang et al., 2007; Jung et al., 2016; Yoon et al., 2023). Водный экстракт *H. serrata* характеризовался большим потенциалом для применения в косметологии в борьбе с возрастными изменениями кожи (Myung et al., 2020).

Гортензия широко используется в ландшафтном озеленении. Различные виды отличаются неприхотливостью в уходе, долговечностью, продолжительным цветением, выносливостью, зимостойкостью, устойчивостью к болезням и

вредителям, что делает их незаменимыми культурами в оформлении садов и парков. Представители *Hydrangea* L. – одни из немногих кустарников стабильно декоративные осенью благодаря соцветиям, меняющим окраску на различные оттенки красного. Зимой цветки засыхают на верхушках побегов и продолжают декорировать ландшафт (Максименко и Максимцов, 2019; Васильева и др., 2020).

H. macrophylla серии «Endless summer» часто располагают у садовой дорожки или сажают рядом с барбарисом оттавским и чубушников венечным. В миксбордерах гортензия занимает задний план, в клумбах центральную часть (Шевырева и др., 2015). В связи со способностью гортензии крупнолистной изменять свою окраску на синие тона, ее можно применять в совершенно разнообразных композициях. Сорта гортензии крупнолистной используют в горшечной культуре. Их выращивают в домашних условиях, выставляют на балконе, патио, террасах, чайных домиках. Не следует забывать, что гортензия отлично подходит для срезки и используется, как сухоцвет (Soner et al., 2020).

Хотя *H. quercifolia* не используется в такой степени, как *H. macrophylla*, она характеризуется большим потенциалом в ландшафтном дизайне. Данный вид отличается резными листьями, привлекательной отслаивающейся корой и способностью к интенсивной осенней окраске. Такое сочетание характеристик позволяет *H. quercifolia* сохранять декоративность пейзажа в течение всех четырех сезонов, в отличие от любых других видов гортензий (Sherwood, 2020).

Гортензия - уникальная культура, которая может расти, как в тени, так и на солнечных участках. Особенно в затененных участках. Осветлить композицию могут помочь *H. arborescens* (сорта 'Sterilis', 'Annabelle'), *H. paniculata* ('Floribunda'). Для создания ландшафтных композиций следует пользоваться правилом колористики. Белоцветковые сорта гортензии сочетаются практически во всех цветовых гаммах. Гортензии с розовыми и красными соцветиями можно сочетать по цвету со зданиями, мощениями, малыми архитектурными формами. Причем с сезонной сменой окраски соцветий визуальное восприятие территории изменяется. Гортензия может быть использована в любой ландшафтной композиции, будь то

частные сады, парки, скверы или муниципальные учреждения (Васильева и др., 2020; Смирнова, 2023).

В последнее время всё большую актуальность обретают формованные растения. Гортензия не является исключением. Штамбовую форму культуре можно придать без больших затрат. Очень необычно такие формы будут смотреться возле фонтанов, памятников, в качестве солитеров. Сорта, которые прекрасно поддаются формовке: 'Bobo', 'Grandiflora', 'Vanilla Fraise', 'Silver Dollar', 'Great Star' и др. (Смирнова, 2023).

Сорта *H. arborescens* подходят для создания живой изгороди и в качестве фона для цветника. Такие сорта гортензии метельчатой как: 'Darts Little Dot', 'Kyushu', 'Unique', 'Praesox' хорошо смотрятся в качестве солитеров (Френкина, 2005). Многие виды и сорта гортензии размещают около древесных культур с кронами темных тонов, как, например, лещина. Гортензия отлично смотрится с хвойными растениями. Культура будет украшать композиции из голубых елей, можжевельника и тиса (Красавцева, 2008).

1.3 Систематика рода *Hydrangea* L.

Гортензия относится к порядку Cornales Dumort. семейству Hydrangeaceae Dumort. роду *Hydrangea* L. Род *Hydrangea* в настоящее время включает 16 секций и около 80 видов, распространенных в основном в Восточной Азии, Юго-Восточной Азии, Южной Азии, Северной, Центральной и Южной Америке (De Smet & al., 2017). Известно, что идентификация видов и определение границ рода у гортензии чрезвычайно сложны, главным образом из-за постоянной изменчивости и совпадения ее морфологических признаков (Zhang & al., 2021; Yang et al., 2024).

МакКлинток успешно разделила гортензии на 23 вида, тщательно картируя их разрозненное географическое распространение (McClintock, 1957). Она разработала морфологический ключ для определения видов и разделила род на две

части: *Hydrangea* Maxim. и *Cornidia* (Ruiz and Pavon) Engler, содержащие шесть и два подраздела соответственно. Ее классификация подтверждается более поздними исследованиями и принята в качестве текущего стандарта (Hufford, 2001). Однако существует значительное несоответствие между классификациями, основанными только на морфологических признаках, и классификациями, основанными исключительно на молекулярных данных (De Smet & al., 2017). Определено, что *Hydrangea* имеет парафилетическую природу (Yang et al., 2024). Значительное разнообразие морфологических признаков в географически изолированных ветвях трибы приводит к признанию этих ветвей как отдельных родов (Sakaguchi et al., 2021), что приводит к дальнейшим трудностям в разграничении уже традиционно признанных родов. По результатам исследований, проведенных Ху-Донг Янгом и др., род *Hydrangea* разделен на 5 подродов и 19 секций. Подроды включают: *Decumaria*, *Heteromallae*, *Cardiandra*, *Hydrangea* и *Dichroa* (Yang et al., 2024).

В настоящее время самыми распространенными представителями рода *Hydrangea* являются: 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.) и гортензия Саржента (*Hydrangea sargentiana* Rehder).

1. 4 Морфо-биологические и экологические особенности видов рода *Hydrangea* L.

К роду *Hydrangea* L. относятся листопадные и вечнозеленые кустарники, реже небольшие деревья или лианы. В зависимости от жизненной формы растения могут достигать высоты до 25 метров. Листья супротивные или иногда мутовчатые, расположенные по 3 штуки, довольно крупные, цельные, часто зубчатые, без

прилистников. (Маляровская и Белоус, 2018). Цветки обоеполые, радиально симметричные, мелкие, многочисленные, собранные в очень крупных, верхушечных, многолучевых, щитковидных или метельчатых соцветиях. Чашелистиков 4 или 5 штук, очень мелкие. У многих видов краевые цветки соцветия стерильны, сохраняются на растении очень долго и резко отличаются по строению от фертильных цветков. Они лишены тычинок, завязи и лепестков и состоят из 3-6 штук сильно увеличенных, лепестковидных, белых или окрашенных, несколько неравных друг другу чашелистиков. Завязь нижняя или полунижняя. Плод – многосемянная, мелкая, двух- пятикамерная, чашевидная коробочка, открывающаяся у верхушки. Корневая система культуры мочковатая. Цветет в зависимости от вида с середины лета до сентября-октября, чрезвычайно обильно и продолжительно. (Тимонин и др., 2009; Бурганская, 2014) Четыре вида гортензии регулярно выращиваются в питомниках Российской Федерации: *H. arborescens* L., *H. paniculata* Siebold, *H. macrophylla* и *H. quercifolia*.

H. arborescens представляет собой кустарник, произрастающий в лиственных лесах Нью-Йорка, на юге от штатов Персидского залива и на западе от Айовы. Зона зимостойкости 4. Листья простые, овальные, цилиндрические. Гортензия древовидная образует на концах побегов большие белые или зеленовато-кремовые соцветия, сохраняющиеся в течение 6-8 недель. Зацветает в середине лета. Осенний цвет часто коричневый, но в некоторые годы ярко-желтый. Данный вид достаточно хорошо растет на ярком солнце, но оптимальным является выращивание в легкой полутени (Fulcher et al., 2016). Он может произрастать на слабощелочных почвах, в отличие от *H. macrophylla*, и предпочитает умеренный уровень влажности. Листья более морозоустойчивы, чем у *H. macrophylla* и *H. serrata* (Dirr, 2004).

H. macrophylla - листопадный вид, происходящий из Южного Китая и Японии (Kardos et al., 2009) 5. Зона зимостойкости 6-9. Вырастает до 2 м в высоту и 2,5 м в ширину, летом и осенью имеет соцветия голубых, розовых, пурпурных и красных оттенков (Дирр, 1998) Листья супротивные, овально-цилиндрические, по краю зубчатые. Цветки формируются на прошлогодних побегах, в верхней части

которых они собраны в плотные соцветия шаровидной формы. В соцветии все цветки или только краевые стерильные. Современные сорта гортензии крупнолистной различаются по окраске цветков, размерам соцветий, высоте и форме куста (есть низкорослые и компактные), способности к корнеобразованию, реакции на кислотность почвы и другим признакам (Бурганская, 2014). Так как крупнолистные гортензии закладывают цветочные почки в конце лета и осенью, то почки часто повреждаются низкими зимними температурами, что может быть причиной отсутствия цветения. Одной из основных проблем при выращивании *H. macrophylla* является хлороз листьев, связанный с чрезмерным поливом, корневыми гнилями и низким усвоением железа (Fulcher et al., 2016).

H. paniculata - кустарник, естественным ареалом которого является Япония, а также восточный и южный Китай. Зона зимостойкости 4. Один из самых морозостойких видов гортензии (Dirr et al., 1993). Может расти как на солнце, так и в легкой тени, адаптируется к широкому диапазону pH, но требует хорошего дренажа. Выдерживает неблагоприятные и более засушливые почвенные условия лучше, чем большинство других гортензий. Цветет в середине лета в зависимости от сорта и местоположения. Соцветия представляют собой большие метелки, содержащие как фертильные, так и стерильные цветки. Цветки сначала белые, но часто в процессе цветения меняют цвет на бледно-розовый (Dirr, 2004; Fulcher et al., 2016).

1.5 Агротехника выращивания представителей рода *Hydrangea* L.

Для посадки в открытом грунте рекомендуется хорошо дренированная, влажная почва, предпочтительно плодородная, песчаная или илистый суглинок с содержанием органических веществ более одного процента (Owen et al., 2016). Посадку в открытый грунт саженцев гортензии проводят до тех пор, пока растение не перешло в фазу развития цветочных почек или после заложения почек. Если корневая система растения достаточно хорошо развита, то можно посадить однолетние черенки в начале сентября. Ямы для взрослых растений заготавливают

размером 50×50×60 см. Туда насыпают смесь перегноя, листового субстрата, торфа и песка в соотношении 2:2:1:1 (Bailey et al., 2000). Расстояние между посаженными растениями должно быть 1-1,5 м. Сажены не стоит заглублять при посадке, корневую шейку оставляют на уровне почвы. Место выбирают солнечное или полутень. Чтобы сохранить растения без повреждения воздействием абиотических факторов, их сажают в защищенные от ветра и от полуденного солнца места (Фомин, 1967; Dirr, 2004).

Для культивирования гортензий широко применяется контейнерное выращивание. Оптимальный pH субстрата составляет 5,5–6,5. При этом некоторые виды предпочитают нейтральные или слабощелочные почвы с pH около 7,0 или выше. В контейнерах для повышения pH используют доломит, который также служит дополнительным источником кальция и магния (Artetxe et al., 1996; Owen et al., 2016). Для посадки используют различные почвенные смеси, лучше всего легкие и плодородные, в состав которых в различных соотношениях входят верховой торф, дерновая и листовая земля, песок, перегной и другие компоненты (Бурганская, 2014).

Гортензии потребляют много воды и чувствительны к низкой влажности почвы (Dirr, 2004). Поэтому рекомендуют добавлять 15-30 % (по объему) сфагнового мха для увеличения водоудерживающей способности субстрата (Owen et al., 2016). Для поддержания достаточной воздухопроницаемости практически не требуется добавление неорганических субстратов (например, перлита), за исключением случаев, когда растения остаются в контейнере в течение длительного периода времени (более девяти месяцев). Отмечается, что при контейнерном производстве гортензий рекомендуется использовать различные виды мульчи, чтобы улучшить рост и качество посадочного материала (Artetxe et al., 1996).

Известно, что чашелистики цветков *H. macrophylla* меняют окраску в зависимости от условий выращивания (Ergür et al., 2019). Все окрашенные чашелистики гортензии содержат только один пигмент антоциан (дельфинидин-3-

глюкозид). В зависимости от уровня pH антоциан меняет цвет гортензии (Ito et al., 2009). Цветовая гамма при этом является крайне разнообразной: от синего до фиолетово-розового и красного. Цвет чашелистика гортензии меняется в зависимости от многих физических и химических факторов, таких как стабильность антоцианов, химическая структура, наличие ко-пигмента, значение pH среды выращивания, температура, наличие ферментов и ионов металлов (Ergür et al., 2019). Цветовая гамма гортензии различается в зависимости от ее сорта. Есть несколько сортов, таких как 'Pia', 'Masja', 'Alpengluhen' и 'Todi', у которых не проявляется синяя окраска независимо от pH почвы или имеют несколько синих цветов на отдельном соцветии (Fulcher et al., 2016).

Для выращивания крупнолистной гортензии с голубыми цветками в контейнерах необходимо тщательно следить за субстратом, водой и минеральным питанием культуры, чтобы обеспечить наличие алюминия (Fulcher et al., 2016). pH субстрата следует поддерживать на уровне от 4,5 до 5,5. Многие производители стремятся к pH 5,0, однако в этом случае может возникнуть дефицит других минеральных питательных веществ (кальция, магния или алюминия) или возрасти токсичность металлов (Pietsch et al., 2022). При низком pH алюминий становится легкоусвояемым. Если pH поливной воды выше 6,5, рекомендовано проводить подкисление 35%-ой серной кислотой. Оптимальный pH воды при этом составляет 5,0-5,2 (Ergür et al., 2019). Формирование голубых соцветий достигается за счет внесения большого количества калия и небольшого количества фосфора. В субстраты следует вносить кислые удобрения, такие как сульфат аммония, нитрат аммония, сульфат калия. Сульфат алюминия также можно добавлять, если его недостаточно (Blom & Piott, 1992).

Чтобы получить розовые гортензии, следует поддерживать pH субстрата выше 6,0, добавляя в субстрат известь или доломит. Для корректировки pH с помощью поливной воды используют фосфорную кислоту. Фосфор помогает формировать розовые соцветия, предотвращая поглощение алюминия. Высокое содержание азота и фосфора при низком уровне калия способствует образованию

светло-розовых чашелистиков. При рН выше 6,4 возможно появление дефицита железа, что корректируется внесением сульфата или хелата железа (Ergür et al., 2019).

В отличие от субстратов, используемых при контейнерном производстве, почвы в открытом грунте обычно содержат достаточный уровень алюминия. Поэтому рекомендуется использовать в качестве удобрения, понижающего рН, элементарную серу, а не сульфат алюминия. Сера необходима для снижения рН до 4,5-5,5, чтобы природный алюминий был доступен растениям. Поскольку алюминий может стать токсичным при низком рН, внесение дополнительного алюминия нежелательно. При выращивании растений в открытом грунте рекомендуют предварительно провести анализ почвы (Fulcher et al., 2016; Pietsch et al., 2022).

Известно, что гортензии предъявляют высокие требования к питательным веществам (Li et al., 2019). Весной ее стоит подкармливать мочевиной 20-25 г/м², сернокислым калием 30-50 г/м², суперфосфатом 30-40 г/м². Как только на растениях появляются бутоны, можно подкормить их суперфосфатом 60-80 г/м², сернокислым калием 40-50 г/м². Третью и четвертую подкормки комплексными удобрениями осуществляют летом, также можно внести под взрослый куст 15 кг перепревшего навоза (Белякова, 2016). Гортензия отзывчива на подкормки птичьим пометом (1:20) и коровяком (1:10), разбавленные водой. Эти подкормки проводят ежемесячно с мая по июль. Также на рынке появилось множество специализированных удобрений для гортензии, богатые железом и магнием. Подкормку следует прекратить в августе- начале сентября для того, чтобы побеги растения успели одревеснеть и подготовиться к зиме (Белякова, 2016).

Внесение удобрений в питомниководстве в основном определяется нормой азота, поскольку ее часто считают ограничивающим фактором. Большая концентрация азота увеличивала индекс роста растений, площадь листьев и сухую массу растений *H. macrophylla* 'Merritt's Supreme' (Li et al., 2019). Было исследовано поглощение минеральных питательных веществ гортензией крупнолистной

«Merritt's Supreme» в зависимости от нормы внесения азотных (N) удобрений, типа контейнера и частоты орошения. Обнаружено, что высокие нормы фертигации азота (210 и 280 мг·л⁻¹) увеличивают количество и размер цветков у *H. macrophylla* 'Merritt's Supreme' (Bi et al., 2008).

Многие авторы отмечают, что одним из самых сложных аспектов агротехники представителей рода *Hydrangea* L. является ее водный баланс (Whipker et al., 2017; Li et al., 2020). Большая площадь поверхности листьев приводит к быстрой потере воды. Гортензии считаются требовательными к воде культурами, которые успешно выращиваются при поддержании влажности субстрата примерно на уровне 20-30%. Поддержание слишком высокого уровня влажности контейнерного субстрата приводит к растяжению (удлинению стебля), поверхностному развитию корней и/или увеличению распространения заболеваемости корневыми заболеваниями (Owen et al., 2016). Различные режимы полива могут способствовать получению более компактных кустов. В жаркие летние дни, когда растения увядают или испытывают тепловой стресс, сортам *H. macrophylla* эффективно проводить дополнительное опрыскивание листьев. Чтобы снизить ежедневную потерю воды, в контейнерном производстве широко применяется мульчирование. Также потерю влаги снижает обработка АБК (абсцизовой кислотой) (Fulcher et al., 2016).

В полевых условиях норма и объем полива должны определяться скоростью инфильтрации грунта, уклоном поля, водоудерживающей способностью почвы и глубиной корней сельскохозяйственных культур (Owen et al., 2016).

Высокая щелочность (>1 мэкв/л) в воде для полива может повысить pH субстрата в процессе производства. Концентрация свободного хлора в оросительной воде $\leq 2,5$ ppm не должна приводить к повреждению растений или влиять на рост сельскохозяйственных культур. Повреждение хлором *H. paniculata* проявляется в виде раннего опадания листьев, а также может приводить к краевому некрозу у других таксонов (Miralles et al., 2013).

Отмечено, что при выращивании *H. arborescens* 'Incrediball' использовалось примерно вдвое меньше воды по сравнению с *H. paniculata* 'Limelight' (Fulcher et al., 2016). Гортензия метельчатая считается более устойчивой к засушливым условиям, чем крупнолистная, но отличается повышенной транспирацией, в отличие от *H. quercifolia*. Гортензию дуболистную рекомендуют выращивать в контейнерах с отверстиями в боковых стенках или в более грубом субстрате с большей пористостью, чтобы корни не оставались слишком влажными (Hagen et al., 2014).

Обрезку гортензии проводят с целью омоложения, санитарной прочистки и формирования кроны. При этом процедура сильно отличается в зависимости от вида растения (Conwell et al., 2002).

H. arborescens необходимо обрезать несколько раз в течение сезона во время вегетации, чтобы получить полноценные, густо разветвленные растения, которые в конечном итоге дают много цветов, образующихся на новых побегах. Обрезка весной не рекомендована, так как может задержать цветение (Fulcher et al., 2016).

Рост *H. macrophylla* может стать прерывистым и потребует многократной обрезки за сезон. Этот вид обычно цветет на побегах прошлого года, поэтому его не следует обрезать после распускания почек, начиная с конца лета и до цветения в следующем сезоне, иначе бутоны будут уничтожены. Если необходима радикальная обрезка, например, для уменьшения размера, это необходимо сделать сразу после цветения. Ремонтантные растения, которые цветут в течение всего сезона на новых побегах, имеют большую гибкость в обрезке (Белякова, 2016).

H. paniculata рекомендуют обрезать два раза в сезон с целью регуляции роста растений, для увеличения количества побегов, цветов и плотности куста (Dirr, 2004).

H. quercifolia цветет на прошлогодних побегах, поэтому при необходимости ее следует обрезать после цветения. Обрезка в конце лета или во время цветения следующего года удалит потенциальные бутоны (Sherwood, 2020). Гортензия древовидная может иметь очень нежелательную асимметричную форму роста, при

этом большинство ветвей располагаются за пределами контейнера. Хотя более новые сорта, такие как 'Ruby Slippers' и 'Munchkin', гораздо более компактны и симметричны по своему характеру роста (Fulcher et al., 2016).

Не все сорта гортензии хорошо переносят зиму. Частой причиной плохого цветения культуры является подмерзание верхушек побегов, на которых закладываются цветочные почки. В связи с отсутствием кроющих чешуек на зимующих почках и плохим одревесневением побегов, гортензия плохо переносит зимы. Поэтому ей необходимо укрытие. Перед этой процедурой на кустах удаляют соцветия, остатки листьев и несформировавшихся молодых побегов. Для предотвращения развития грибных заболеваний, перед укрытием растение опрыскивают раствором медного купороса. Существует множество способов укрытия растения. Самым простым является мульчирование приствольного круга. Мульчирование проводят опавшей листвой, опилками, корой хвойных деревьев, соломой, торфом, лапником, хвоей (Василевский, 2012). Лучше это делать в сухую погоду с наступлением первых заморозков. Для укрытия молодых, еще неразвитых побегов требуется более надежный прием. Поздней осенью побеги пригибают к земле и укладывают на доски либо хвою, прищипливают металлическими крючками и укрывают хвойным лапником или опавшими листьями. Но укрытие пригибанием негнущихся одревесневших побегов довольно затруднительно. В этом случае кусты обвязывают и укрывают лутрасилом или спанбондом. Слой мульчи и другого укрывного материала стоит снимать весной, когда опасность заморозков миновала. Эту операцию стоит проводить в пасмурную или не очень солнечную погоду, для того чтобы растение не получило солнечный ожог.

1.6 Болезни и вредители представителей рода *Hydrangea* L.

Согласно исследованиям Догадиной А. М. наиболее часто на гортензиях встречаются следующие болезни: белая гниль (*Sclerotinia sclerotiorum*), мучнистая роса (*Erysiphales spp.*), ржавчина (*Puccinia spp.*), септориоз (*Septoria spp.*), серая гниль (*Botrytis cinerea*) (Догадина и др., 2022). Гортензия может заболеть корневой

гнилью (фитофторозом). Как правило, болеет этой болезнью гортензия крупнолистная. Выражается это в изменении окраски листьев на бледные тона, засыхание их и опадание. Обычно корневая гниль развивается на переувлажненных участках при повышении температуры воздуха. Также ее возникновению способствует повышенное внесение азотных и минеральных удобрений. Профилактикой заболевания является своевременное внесение удобрений в нужных количествах (Li et al., 2016).

Еще одним из наиболее часто встречаемым заболеванием гортензии является хлороз. Хлороз на гортензии может возникать в связи с нехваткой в грунте железа. В результате растение начинает слабеть и прекращает ростовые процессы: листья желтеют и светлеют (Landis & Whipker, 2017). Профилактику хлороза рекомендуют проводить с момента активного распуска почек хелатом железа или препаратами «Агрекол», «Микро Fe», «Брексил», «Феровит» и «Феррилен» по листу. Достаточно хорошо себя показал метод двух-трехразового полива приствольного круга раствором нитрата калия или железного купороса, в таком случае 40г реактива растворяют в 1 л воды (Догадина и др., 2022).

Особый вред *H. macrophylla* наносят слизни и улитки. Для предотвращения появления этих вредителей необходимо пользоваться мульчирующим материалом, который не только поможет спасти растение от вредителей, но и благоприятно подействует на рост и развитие растения (Белякова, 2016).

Другим часто встречающимся вредителем является паутинный клещ. Для предотвращения его появления необходимо поддерживать высокую влажность воздуха, все растительные остатки сжигать, проводить профилактическую обработку химическими препаратами и использовать мыльный раствор. Рекомендованы химические («Актара», «Актеллик») и биологические («Акарин», «Фитоверм») инсектициды (Прибылова и Карпухин, 2020).

Трипсы поражают в основном растения в оранжереях и зимних садах, но в последнее время наблюдается их появление и в открытом грунте. Они могут причинить вред побегам, которые со временем начинают отставать в росте.

Справиться с ними можно химическими препаратами («Вермитек», «Актеллик», «Актара») (Бурганская, 2014).

1.7 Размножение представителей рода *Hydrangea* L.

Представители рода *Hydrangea* L. традиционно размножают с помощью 2-ух способов: семенного и вегетативного (Owen et al., 2016).

Размножение семенами широко применяется при селекции, так как сеянцы являются генетически неоднородными. Семена гортензии обычно сухие, мелкие, плоские, без крыльев. Их собирают поздней осенью или в начале зимы. Обычно для прорастания семян не требуется стратификация, однако охлаждение в течение 30-90 дней может ускорить время появления всходов. Всходы появляются в течение 10-30 дней. Семена *H. arborescens* и *H. macrophylla*, посеянные на измельченный сфагнум, прорастают через 2-3 недели.

Сеянцы *H. paniculata* могут зацвести в тот же год, когда были посеяны семена. В исследовании Мурзабулатовой и Поляковой показано, что прорастание крупных семян *H. paniculata* происходит позже относительно других видов гортензий. Кроме того, этот вид характеризуется очень низкой всхожестью. Семена *H. arborescens* и *H. paniculata* имели самые низкие показатели энергии прорастания и всхожести как в лабораторных условиях, так и в открытом грунте (Мурзабулатова и Полякова, 2020).

Сеянцы доращивают на протяжении 3-4 лет в грядках, делая регулярную обрезку однолетних побегов. Но, несмотря на то, что семенной способом размножения считается экономичным, для производства саженцев он используется очень редко.

Преимущества вегетативного размножения состоят в том, что полученный таким образом посадочный материал сохраняет сортовые признаки родительских форм. Существует несколько способов вегетативного размножения: черенки, отводки, деление куста (Мурзабулатова и Полякова, 2020).

Вегетативное размножение широко используется для массового размножения представителей рода *Hydrangea* L. в питомниках. Гортензию размножают в феврале-апреле зелеными черенками. Их можно заготавливать с прикорневых побегов – это обеспечит получение более выровненных растений (Бурганская, 2014). Для получения стеблевых черенков используют молодой прирост, который появляется на старых, прошлогодних побегах. Стеблевые черенки, собранные в начале сезона (май), дают более крепкие и быстрорастущие растения, чем черенки, собранные позже летом (июль), но все черенки, собранные в этот период времени, относительно легко укореняются. Растения, выращенные из прикорневых черенков, закладывают цветочные почки значительно позднее, чем растения, выращенные из черенков, взятых со средней части стебля и из верхушечных побегов. Черенок должен иметь не менее двух междоузлий, хотя при недостатке посадочного материала можно использовать части растения с одним междоузлием (Фомин, 1967).

Для укоренения черенков используют различные субстраты: смесь перлита, низинного торфа с песком (1:1 или 1:2); смесь верхового торфа с песком (2:1 или 3:1) (Бурганская, 2014). Исследователи отмечают, что наиболее высокие показатели укоренения гортензий были получены в субстратах с торфом (Мурзабулатова и Полякова, 2020). Плотность посадки в субстрат – 400-600 черенков на 1 м². Оптимальные условия для укоренения черенков создаются под пленочным укрытием, установленным на стеллажах с обогревом. Температуру субстрата поддерживают на уровне 18-20°C, воздуха – на 2-3°C ниже. Черенки притеняют от прямых солнечных лучей и опрыскивают 2-3 раза в день. Корни образуются через 18-25 дней, при этом белые сорта укореняются дольше (Бурганская, 2014).

Стеблевые черенки *H. arborescens* укореняются на 100 процентов в течение 2-3-ех недель. Однако авторы рекомендуют собирать черенки в начале лета и укоренять их достаточно рано, чтобы увеличить выживаемость саженцев при

зимовке. Также это снижает затраты на отопление, которое необходимо не укоренённым черенкам осенью (Fulcher et al., 2016).

Весной гортензию можно размножить отводками. Однолетние порослевые побеги укладывают в небольшие канавы таким образом, чтобы верхушка побега оказалась на поверхности (Пилюгина и Поликарпова, 1991). Уложенные побеги прищипывают металлическими крючками и присыпают грунтом или перегноем. Можно сделать надрез или перетянуть проволокой участок выше места засыпки. К осени на местах образования почек должны образоваться новые молодые растения, а на горизонтальном отводке должны образоваться корни. Новые молодые растения отрезают и пересаживают на новое постоянное место (Тарасенко, 1991).

Также гортензию можно размножить делением куста. Этот способ достаточно легкий и менее трудоемкий. Осенью куст гортензии откапывают и корневую систему разделяют на 2-3 равные части. Важно, чтобы на каждом разделенном растении оставалось не меньше 3 почек возобновления. Полученные растения сажают в грунт и поливают (Сапелин, 2008).

1.8 Культивирование рода *Hydrangea* L. в условиях *in vitro*

1.8.1 История развития клонального микроразмножения представителей *Hydrangea* L.

Посадочный материал гортензии чаще всего получают черенкованием побегов. Однако черенки медленно адаптируются к почвенным условиям, в связи с чем все большее значение в последние годы приобретает метод клонального микроразмножения (Arafa et al., 2017).

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

существовании тотипотентности (Лутова, 2010). Большой скачок в истории науки совершили ученые Робинсон (США) и Котте (Германия) (Albrecht, 1986). Они постулировали необходимость использования более сложных сред для культивирования меристематических клеток (Шипунова, 2003). Позднее французский ученый Готре и американский ученый Уайт стали родоначальниками современных методов культивирования изолированных органов и тканей. Во второй половине XIX века происходит расширение и оптимизация питательных сред: изучены составы макро- и микросолей, витамины и стимуляторы роста. Список культур, выращиваемых в условиях *in vitro* постепенно пополнялся. В то же время ученые Фольке К. Скуг и Ф. Миллер открывают цитокинины. Выяснилось, что благодаря регулированию концентраций и соотношения цитокининов и ауксинов можно управлять делением клеток экспланта, поддерживать рост каллусной ткани, индуцировать морфогенез (Прижмонтас, 1991). В 1960-70 годах был разработан метод клонального микроразмножения, позволяющий быстро с высоким коэффициентом размножить 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 (Бутенко, 1999). На органогенез и размножение *in vitro* оказывает влияние множество факторов: генотип растений, источник эксплантов, состав питательной среды, регуляторы роста, температура, свет и т.д. (Dirlik et al., 2022).

За последние 40 лет было опубликовано множество статей, посвященных размножению различных видов гортензии *in vitro*. В 1987 году Себастьян и др. разработали первый протокол микроразмножения *H. quercifolia* (Sebastian & Neurser, 1987).

Этапы клонального микроразмножения гортензии, как правило, включают в себя:

1. Отбор, стерилизацию эксплантов и помещение их на питательную среду;
2. Собственно микроразмножение;

3. Перенос регенерантов на среду для укоренения или на длительное хранение;
4. Этап адаптации.

Каждый из перечисленных этапов имеет свою специфику.

Особое внимание уделяется первому этапу, так как от успеха получения стерильной культуры зависит дальнейший процесс микроразмножения (Kyte & Kleyn, 1987). Основопологающим фактором здесь является соблюдение строгой стерильности с целью предотвращения контаминации. Источниками контаминации могут быть экзогенные и эндогенные микроорганизмы. Культуры растений поражаются разными бактериальными, грибковыми и вирусными организмами, многие из которых являются видоспецифичными (Varghese & Joy, 2016). Контаминанты могут проявить себя сразу или не воздействовать на клетки и ткани культуры в течение длительного времени (Ray & Ali, 2016). Примерно 20–55 % потерь растительного материала в культуре растений *in vitro* происходят из-за бактерий (Tekielska et al., 2019). Поэтому исследователи придают особое значение уничтожению микроорганизмов, проникающих из окружающей среды, с помощью процесса стерилизации.

В качестве стерилизующих веществ используют: 70%-ный этанол, 10%-ный гипохлорит натрия и кальция, 1%-ный раствор брома, 0,1% раствор сулемы, 13%-ный пергидроль, различные фунгициды и др. Продолжительность стерилизации зависит от генотипа растения, его морфологических особенностей, степени одревеснения побега, степени загрязнения материала и колеблется от нескольких секунд до десятков минут (Деменко, 2007; Leelavathy & Sankar, 2016).

В исследовании Адельберга и др. почки *H. macrophylla* очищали от опушения 70% этиловым спиртом. В качестве стерилизующего вещества использовали смесь коммерческого отбеливателя (1,0-1,5 % раствор NaOCl) и воды в соотношении 1:1 (экспозиция составила 20 мин) (Adelberg et al., 2006). В работе В.И. Маляровской для получения стерильной культуры использовали 0,1% водный раствор сулемы (Маляровская, 2017). М. Шишко изучено влияние стерилизационных обработок на инициацию культуры трех генотипов *H. macrophylla in vitro*. Обработка 16%

дихлоризоциануровой кислотой в сочетании с 8 % нитратом серебра в течение 2 и 10 мин была значительно эффективнее по сравнению с вариантами обработки гипохлоритом натрия. Жизнеспособность эксплантов в этом случае составила 63,3 % и 55,0 % Также отмечено, что на успех стерилизации существенное влияние оказали изучаемые генотипы (Šiško, 2016).

Во всех исследованиях к стерилизующим агентам добавляли препарат Твин 20 (от 1 до 5 капель) (Adelberg et al., 2006; Šiško, 2016; Маляровская, 2017).

Успех культивирования *in vitro* во многом зависит от химического состава питательной среды (Vahdati et al., 2009). Питательная среда состоит из 5 компонентов: макросолей, микросолей, витаминов, регуляторов роста, источников углерода. Минеральная основа питательной среды должна содержать все необходимые для растений элементы питания: азот, фосфор, калий, кальций, сера, магний, железо, бор, марганец, цинк, медь и др. (Wudali et al., 2022; George & Davies, 2008). Традиционно питание растений в культуре *in vitro* гетеротрофно, в связи с этим появляется необходимость применения источников углерода (Высоцкий и Леонтьев-Орлов, 1983). Такими источниками, которые необходимы для энергии растений, как правило, служат сахароза и глюкоза в различных концентрациях. Оптимальное содержание углеводов в питательной среде 25-30 г/л. Из витаминов наиболее известными являются: тиамин, пантотеновая кислота, пиридоксин, аскорбиновая кислота, рибофлавин (Wudali et al., 2022). Некоторые составы питательных сред представлены в таблице 1.

Таблица 1- Минеральный состав питательных сред

Компоненты питательной среды	Концентрация, мг/л			
	MS (Murashige & Skoog, 1962)	QL (Quoirin, 1977)	WPM (McCown, 1981)	B5 (Gamborg et al., 1968)
NH ₄ NO ₃	1650	400	400	2500
KNO ₃	1900	1800	-	-
MgSO ₄ ·7H ₂ O	370	360	180,54	250
KH ₂ PO ₄	170	270	170	-
Ca (NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	-	1200	471,26	-
MnSO ₄ ·4H ₂ O	22,3	1,0	22,3	10,0
H ₃ BO ₃	6,2	6,2	6,2	3,0
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	8,6	8,6	8,6	2,0
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0,25	0,25	0,25	0,25
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,025	0,025	0,25	0,025
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0,025	0,025	-	0,025
KI	0,83	0,8	-	0,75
FeSO ₄ ·7H ₂ O	27,95	27,8	27,8	27,95
Na ₂ ЭДТА	37,3	37,3	36,7	37,3
K ₂ SO ₄	-	-	990	-
Глицин	2,0	-	-	-
Мезоинозит	100	-	-	100
Никотиновая кислота	0,5	-	-	1,0
Пиридоксин - HCl	0,5	-	-	1,0
Тиамин - HCl	1,0	-	-	10,0
2,4 -Д	-	-	-	0,1-1,0
Сахароза	30000	30000	30000	30000
Агар-агар	7000	7000	7000	7000

Леонардом Штольцом на сорте *H. macrophylla* 'Merveille' было показано, что для получения большого количества регенерантов следует использовать питательную среду MS с добавлением 1 мг/л БАП. Наилучшие результаты в опыте достигали при наличии в среде 5 мг/л 6-БАП. Однако данная концентрация усиливала каллусогенез, что является нежелательным явлением при получении генетически однородного материала. Все среды, содержащие НУК (α -нафтилуксусную кислоту), также приводили к росту каллуса. Особенно выражен

этот эффект был у микропобегов, культивируемых на среде, содержащей 5 мг/л 6-БАП с 0,1 мг/л НУК (Stoltz, 1984).

Влияние тидиазурона (TDZ) на пролиферацию побегов *in vitro* было продемонстрировано Присом и Ледбеттером: Сочетание среды MS с 1 мкМ ИМК и 0,05 мкМ TDZ стимулировало образование более удлиненных побегов, тогда как самая высокая концентрация TDZ (5 мкМ) приводила к образованию большого количества каллуса и множества укороченных побегов (Preece & Ledbetter, 2003; Ledbetter et al., 2004; Donna et al., 2004.). Однако для практического применения в условиях производства этот регулятор роста в настоящее время слишком дорог.

Абу Дахаб разработал протокол микроразмножения *H. macrophylla* для ее коммерческого использования (Abou Dahab, 2007). Дойл и др. сообщили, что 6-БАП, а не TDZ, может вызвать более высокую скорость регенерации гортензии крупнолистной сорта 'Nachtigall' (Doil et al., 2008). Боккон-Гибод и др. обнаружили, что наличие в составе питательной среды углеводов является важным фактором, определяющим регенерацию сортов гортензии 'Blaumeise', 'Messalina' и 'Red Barons'. Мальтоза и сахароза увеличивают скорость регенерации данных сортов (Boscon-Gibod et al., 2000). В 2012 году Сакко и соавторы сообщили, что *H. quercifolia* 'Snow Queen' продемонстрировала эффективную способность к размножению *in vitro* в сочетании с хорошей скоростью пролиферации при культивировании эксплантов на среде MS с 0,25 мг/л 6-БАП (Sacco et al., 2012).

Известно, что баланс между цитокинином и ауксином детерминирует морфогенез регенерирующих тканей и органов: более низкое соотношение ауксин/цитокинин запускает регенерацию побегов, а более высокое соотношение приводит к регенерации корня (Momoko et al., 2019). В исследовании Вонга и др. обнаружили, что 2,0 мг/л-1 6-БАП положительно влияют на индукцию пазушных почек (Wang et al., 2021). Вероятно, данный цитокинин напрямую взаимодействует с эндогенным ауксином, способствуя регенерации пазушных побегов (Hu et al., 2017). Кроме того, экзогенная добавка 0,5 мг/л ИУК также улучшает скорость нарастания побегов. Однако чрезмерное добавление ИУК значительно снижает

регенерацию побегов. Причина, возможно, в том, что высокая концентрация ауксина ингибирует непосредственно органогенез микропобега и способствует соматическому эмбриогенезу (Shukla et al., 2014).

Маляровской и др. установлено, что на изменение коэффициента размножения влияли сортовые особенности, а также источник и концентрация регуляторов роста в питательной среде. Наиболее эффективно клональное микроразмножение *H. macrophylla* происходило на питательной среде MS, дополненной 6-БАП в концентрации 2,0 мг/л, при этом коэффициент размножения варьировал в зависимости от сортовых особенностей от 6,7 шт./эксплант у 'Vichon' до 8,9 шт./эксплант у 'Madame Hamard' (Маляровская и др., 2013).

Большинство исследований было проведено с целью изучения влияния ауксина и/или цитокинина на рост и размножение побегов растений *in vitro*. По данным Шишко (2016), пролиферация побегов была лучше на среде WPM для древесных растений, чем на среде MS, даже несмотря на то, что в обе среды добавлялись 2 мг/л 6-БАП и 0,005 мг/л НУК (Šiško, 2016).

Половинная концентрация нитрата аммония (NH_4NO_3) , взятого по прописи MS, достоверно увеличивала массу микропобегов гортензии по сравнению с другими обработками. Количество корней растений *in vitro* при этой обработке было самым высоким, что приводило к лучшему усвоению питательных веществ культурой. Уменьшение (NH_4NO_3) на среде MS усиливает образование придаточных корней.

Культуры *in vitro* зависят не только от присутствия химических компонентов, но и от физических факторов окружающей среды, таких как интенсивность света, концентрация углекислого газа, температура и относительная влажность. За последние 20 лет было доказано, что фотоавтотрофное (не содержащая сахара) микроразмножение эффективнее для производства растений *in vitro* по сравнению с фотомиксотрофным (или сахаросодержащей средой) микроразмножением (Nguyen et al., 2016).

Исследования показали, что фотоавтотрофные условия подходят для выращивания некоторых гортензии *in vitro* (Luc et al., 2020). Растения, выращенные в фотоавтотрофных условиях, имели увеличенную сырую массу, повышенную сухую массу и площадь листьев, значительно большую, чем у растений, выращенных в фотомиксотрофных условиях. Кроме того, чистая скорость фотосинтеза растений при отсутствии углеводов была статистически выше и увеличивалась в течение всего периода культивирования.

Актуальными являются исследования, касающиеся кислотности питательной среды. Уровень pH влияет на химическую растворимость и доступность необходимых питательных веществ для растений. Поскольку H^+ является катионом, он будет конкурировать с другими катионами за места обмена. В исследовании Ксяо и др. изучили связь железа с фотосинтезом, а также поиск наиболее благоприятного источника этого элемента и уровня pH для роста *H. macrophylla*. Испытывали различные концентрации pH: 4,70, 5,70 или 6,70. По сравнению с контролем количество листьев у регенерантов, обработанных $FeSO_4$ и Fe-ЭДТА, было в 2,0 и 1,5 раза больше соответственно. Содержание хлорофилла, макроэлементов и микроэлементов было наибольшим при использовании Fe-ЭДТА при pH 4,70. Кроме того, концентрация в тканях влияет на фотосинтез, регулируя развитие устьиц, содержание пигментов и антиоксидантную систему, а также экспрессию генов, связанных с поглощением, транспортом и перераспределением Fe. Заявлено, что добавление Fe в хелатной форме с ЭДТА, при pH среды 4,70 является лучшими условиями для роста и развития проростков *H. macrophylla*, культивируемых *in vitro* (Xiao et al., 2021).

1.8.2 Длительное сохранение представителей рода *Hydrangea* L. в культуре *in vitro*

В настоящее время во всем мире для сохранения биоразнообразия вне естественных местообитаний растений (*ex situ*) широко применяются различные методы биотехнологии, среди которых особую роль играет создание генетических банков *in vitro* (Ветчинкина и др., 2012; Новикова, 2013).

Исключительную ценность для поддержания биоразнообразия коллекций ботанических садов и сохранения генофонда растений, особенно в тех случаях, когда вид или сорт представлен в ограниченных экземплярах, представляют технологии клонального микроразмножения. При формировании генетических банков для многих родов растений некоторые авторы рекомендуют в качестве первичного экспланта использовать семена (Новикова и др., 2008).

Однако в этом случае часто возникает комплекс сложностей, связанный с наличием у многих видов семян периода покоя (Молканова, 2009). В исследовании, изучающем показатели всхожести семян различных видов гортензий *in vitro*, было выявлено, что данный показатель может варьировать от 6 до более 40% (Greer & Rinehart, 2010). Семена, использованные в этой работе, были получены от открыто опыляемых растений. Авторы изучили влияние света, холода и обработки стимуляторами роста на проращивание семян и преодоление периода покоя. Самые высокие общие показатели проращивания семян гортензии *in vitro* были получены на питательной среде В5 при обработке сухим холодом в течение шести недель с добавлением ГК 3 и KNO_3 в присутствии белого света (фотопериод составил 24 часа для *H. macrophylla*, и 16 часов для *H. paniculata*). Таким образом, применение семян для формирования банка *in vitro* является трудоемким.

Другим эффективным способом поддержания коллекций *in vitro* стало хранение в условиях минимального роста. Основной задачей в этом случае является сохранение жизнеспособности эксплантов в сочетании с максимальным увеличением длительности субкультивирования (Ветчинкина и др., 2012).

Основываясь на результатах хранения при низких температурах *Humulus L.* и других видов растений, Рид и др. предложили стандартный протокол хранения при пониженных температурах, используемый для культур умеренного климата (Reed et al., 2003). Растения, перенесенные на питательную среду для хранения, хранили при 4°C с 12-часовым фотопериодом и при очень низкой интенсивности света. Средняя продолжительность хранения для 70 генотипов составила 14 месяцев и варьировала от 6 до 26 месяцев. Аналогичные результаты были получены и для представителей родов *Asparagus L.* (Bekheet, 2000), *Anigozanthos Labill.* (Turner et al., 2001). Хотя результаты были неоднозначными, во многих случаях лучшие показатели выживаемости были получены при использовании источников света при хранении, чем в темноте (Bhatt et al., 2005).

В лаборатории биотехнологии ГБС РАН усовершенствовали методику длительного хранения микропобегов при пониженной температуре и повышенном содержании сахарозы в питательной среде (30-120 г/л). На ряде таксонов были разработаны способы хранения при замедленном росте с применением осмотиков и ретардантов. Представители Ericaceae, Rosaceae и Oleaceae успешно сохраняли без пересадок в течение 18 месяцев на ½ питательной среды MS с добавлением 40 г/л сахарозы, 8 г/л маннита при пониженной температура (2-4°C) и слабой освещенности (Молканова, 2009).

В настоящее время актуальным является изучение влияния различных ретардантов *in vitro*. Данные вещества действуют как ингибиторы роста, тем самым сокращая затраты на производстве, так как уменьшается количество манипуляций с растительным материалом (Mendes et al., 2021). Наиболее часто при сохранении применяют хлорхолинхлорид (ССС) и паклобутразол (ПБЗ). СССР - препарат ретардантного действия, широко применяющийся в земледелии для предотвращения полегания посевов зерновых культур (Воробейков и др., 2005). ПБЗ является регулятором роста растений и представляет собой триазол, который может остановить биосинтез ГК 3. Данный ретардант позволяет уменьшить высоту растения, увеличить диаметр стебля и количество листьев. Установлено, что ПБЗ в

культурах тканей растений является одним из наиболее важных ингибирующих веществ, которые замедляют рост и уменьшают количество субкультивирований. В условиях *in vitro* он также усиливает устойчивость растений к различным абиотическим и биотическим стрессам. Однако все еще необходимы дополнительные исследования, касающиеся токсического действия высоких концентраций ПБЗ на различные виды растений (Mendes et al., 2021).

1.8.3 Современная селекция *Hydrangea L.* с применением биотехнологических методов

Отдельно стоит отметить возрастающий в последние годы интерес к современной селекции различных видов гортензии, включающей гибридизацию *in vitro* и генную инженерию.

Рынок гортензии расширяется с каждым годом и производители посадочного материала заинтересованы в получении новых гибридов и сортов. Основная цель селекции - повышение изменчивости таких декоративных признаков, как цвет и форма цветка, а также повышение зимостойкости культуры (Nesi et al., 2023). Для достижения этой цели в селекционных программах широко использовали внутривидовые, межвидовые и даже межродовые скрещивания. Гибриды *H. macrophylla* и *H. paniculata* были получены с использованием эмбриогенеза *in vitro*, но полученные растения были стерильными и характеризовались низкой жизнеспособностью (Reed et al., 2001; Rinehart et al., 2018). В 1997 году был начат проект межвидовой селекции гортензий с целью получения морозостойких гортензий с яркими цветками. В опыте Рида и др. пять комбинаций сортов *H. macrophylla* x *H. paniculata*, были размножены и укоренены *in vitro*. Предполагаемые гибриды 'Кардинал' и 'Брюссельское кружево' были единственными растениями, которые дали корни и пережили перенос в теплицу. Количество выживших гибридов было мало, а оставшиеся уменьшились в размерах

и росли медленно, имея среднюю высоту всего 6,4 см через 8 месяцев введения их в условия *ex vitro* (Reed et al., 2001). Культивирование эмбриокультуры *in vitro* для получения жизнеспособных межвидовых гибридов *H. macrophylla* × *H. arborescens* L. было использовано в работах Кудо и Ниими (Kudo & Niimi, 1999). Гибридные эмбриониды часто возобновляют рост и развиваются в нормальные растения при их извлечении из завязи и помещении на питательную среду (Reed, 2000). Рид определил, что семена образуются легче, если в качестве материнского родителя используется *H. macrophylla* (Reed, 2001). Другие межвидовые скрещивания между *H. macrophylla* и *H. arborescens* или *H. macrophylla* и *H. quercifolia* оказались неудачными. Предполагаемые гибридные проростки погибли на стадии семядолей или на стадии первого набора настоящих листьев (Reed, 2000). Один из эффективных подходов к преодолению барьеров несовместимости, вызывающих гибель гибридов – метод соматического эмбриогенеза (Kudo et al., 2008). Таким образом Каи и др. были получены межвидовые гибриды между *H. macrophylla* 'Schneeball' × *H. arborescens* 'Annabelle' (Cai et al., 2015)

В исследовании Б. Неси и др. изучали применение методов *in vitro* для преодоления трудностей гибридизации и повышения эффективности скрещиваний гортензии. Селекция данной культуры затруднена из-за довольно длительного цикла размножения. Скорость прорастания незрелых семязачатков сравнивали на средах В5 и MS. Доказано, что на всхожесть и жизнеспособность сеянцев влияли родительские генотипы. Также авторы выделены лучшие комбинации для скрещивания. В исследовании отмечено, что используемые среды в небольшой степени влияют на прорастание яйцеклетки, но достоверно влияют на рост и развитие регенерантов. Количество листьев, побегообразование и длина корней увеличивались на 30% при использовании среды В5. Также в исследовании были подобраны несколько SSR (Simple Sequence Repeats) маркеров для оценки происхождения предполагаемых гибридов (Nesi et al., 2023). Авторы выявили положительный эффект активированного угля и смеси промышленных консервантов (PPM®, Plant Cell Technology, Inc., Вашингтон, округ Колумбия,

США) на развитие растений в культуре *in vitro*. Это связано с адсорбцией ингибирующих соединений в питательной среде и существенным уменьшением влияния токсичных метаболитов и фенольной экссудации. Некоторые исследования подтверждают, что активированный уголь может постепенно высвобождать определенные адсорбированные продукты, такие как питательные вещества и регуляторы роста, которые становятся доступными растениям (Pan & Van Staden, 2002)

Особый интерес для современной селекции гортензий представляют полиплоиды. *H. macrophylla* и *H. serrata* имеют двойной набор хромосом - $2n = 36$ (Bertrand & Lambert, 2001). В культуре обнаружено некоторое количество триплоидных *H. macrophylla*, предположительно образовавшихся из нередуцированных гамет (Jones et al., 2007). Было замечено, что триплоидные сорта демонстрируют большое нарастание вегетативной массы, имеют более зубчатые листья и образуют более крупные соцветия, но в меньшем количестве по сравнению с диплоидами (Zonneveld, 2004; Alexander, 2017).

Потенциальные преимущества полиплоидных растений хорошо известны. Растения с удвоенным количеством хромосом имеют более крупные листья и цветы, отличаются повышенной устойчивостью к вредителям и стрессам, а также обладают повышенной жизнеспособностью (Ranney, 2006; Tamayo-Ordonez et al., 2016). В то же время полиплоидия может приводить к снижению цветения и аномальному росту (Dhooghe et al., 2011).

Полиплоидию *in vitro* индуцируют с помощью ингибиторов митоза: колхицина, оризалина и трифлуралина (Touchell et al., 2020). Эти химические соединения вызывают деполимеризацию микротрубочек, которые переносят хромосомы к дочерним клеткам во время анафазы. Так как колхицин представляет опасность для здоровья людей, для получения полиплоидов чаще используют Оризалин, который продается как гербицид «Сурфлан» (United Phosphorus, Inc., Мумбаи, Индия) (Deans et al., 2021).

Динс и др. разработали эффективный протокол индукции полиплоидов *in vitro* *Hydrangea* sp. (Deans et al., 2021). В работе исследовали обработки оризалином и нитротирозином для индукции полиплоидии *in vitro* у *H. macrophylla* (сорт 'Robert') и *H. serrata* (генотип МАК20). Верхушки побегов МАК20 обрабатывали препаратами в течение нескольких дней, а плоидность побегов определяли через 8 недель. Регрессионный анализ показал, что доля тетраплоидных и миксоплоидных побегов увеличивалась с увеличением продолжительности воздействия. Оризалин, нитротирозин и их взаимодействие повлияли на частоту полиплоидов у сорта 'Robert', при этом комбинация оризалина (15 мкМ) и нитротирозина (50 мкМ) привела к самой высокой индукции полиплоидов - 50%. Стерильные верхушки побегов культивировали на питательной среде В5, дополненной 6-БАП и 0,1 мкМ НУК. В качестве желирующего агента использовали 2,5 г L1 Gelzan (Phytotechnology Laboratories, Lenexa, KS). Через 1 год после перемещения тетраплоидных растений в условия *ex vitro* их оценивали по сравнению с диплоидными генотипами. Полиплоиды имели более крупные листья и стебли, а также более длинные междоузлия. Хотя у всех тетраплоидов было меньше соцветий, оба сорта *H. macrophylla* имели больший диаметр соцветий, а у сорта 'Дэвид Рэмси' было большее количество стерильных цветков с увеличенными декоративными чашелистиками на соцветие.

Для индукции цветения гортензий вне сезона имитируют естественные условия окружающей среды, культивируя растения при определенных режимах температуры и влажности (Bailey, 1989). Низкая температура (4-7°C) и высокая влажность необходимы для распускания цветочных почек (Guo et al., 1995). При данных параметрах гортензия становится крайне уязвима для грибка *Botrytis*. Поскольку для производства цветов холодный период обязателен, селекционеры обращаются к генной инженерии, чтобы повысить устойчивость растений к грибным заболеваниям. Для гортензии пока не существует системы трансформации для анализа функций генов *in vivo*. Поэтому разработка

эффективной системы регенерации является необходимым условием генетической модификации этого важного декоративного растения (Liu et al., 2011).

При клональном микроразмножении могут возникать соматоклональные вариации. Молекулярные маркеры в настоящее время являются мощными и надежными инструментами для анализа генетической стабильности регенерантов *in vitro*. Для определения стабильности регенерантов можно использовать случайно амплифицированную полиморфную ДНК (RAPD), простой повтор последовательности (SSR), проточный цитометрический анализ и морфологический анализ (Jin et al., 2008). Методика повторения простых последовательностей (ISSR) использовалась наиболее часто из-за ее воспроизводимости, простоты и экономической эффективности.

Цефотаксим — антибиотик, используемый для борьбы с *Agrobacterium tumefaciens* после инокуляции. Известно, что цефотаксим обычно снижает или даже подавляет регенерацию растений, за исключением пшеницы, где он усиливал органогенез (Yu & Wei, 2007). Поэтому важно знать влияние различных концентраций антибиотиков на регенерацию разных видов растений, прежде чем использовать их в экспериментах по трансформации.

Фенг Лиу и др. впервые разработан протокол регенерации *in vitro* гортензии крупнолистной «Hyd1» (Feng et al., 2011). Влияние различных регуляторов роста растений на регенерацию побегов исследовали совместно с подбором оптимальных питательных сред и концентраций цефотаксима. Самая высокая частота органогенеза побегов (100%) и среднее количество побегов на эксплант (2,7 шт.) обнаружены на среде В5 с добавлением 2,25 мг/л 6-БАП и 0,1 мг/л ИМК, 100 мг/л цефотаксима и 30 г/л сахарозы. Результаты экспериментов по регенерации с использованием бактериального антибиотика цефотаксима показали, что наиболее эффективное (100%) побегообразование происходило на среде с добавкой цефотаксима в концентрации 100 мг/л. Более высокие концентрации цефотаксима (150, 200, 250 мг/л) снижали частоту органогенеза до 80-87%. Эти результаты показали, что цефотаксим не ингибирует индукцию побегов Hyd1, но может даже

способствовать их увеличению. Авторы предполагают, что цефотаксим превращался в результате клеточного мотоболизма в неизвестное соединение с фитогормональной активностью. Цефотаксим в концентрации 200 мг/л удовлетворительно ингибирует рост бактерий и его можно рекомендовать для использования в будущих экспериментах по трансформации. Также в исследовании обнаружили, что оптимальная концентрация для индукции пазушных почек составляет 2,0 мг/л 6-БАП и 0,5 мг/л ИУК, максимальная скорость индукции составила 70%. При этом самый высокий коэффициент пролиферации пазушных побегов составил 10,7 на среде MS с 2,0 мг/л 6-бензиладенина (БА), 0,2 мг/ ИМК и 1,0 мг/л ГК. Наибольшая частота корнеобразования составила $80,0 \pm 0,06\%$ при культивировании микропобегов на среде 1/2 MS, содержащей 0,1 мг/л ИМК (Liang et al, 2020).

1.8.4 Использование гидропонных установок для адаптации регенерантов *ex vitro*

Адаптация растений-регенерантов к условиям *ex vitro* является критической стадией микроразмножения для многих видов растений. Культивирование растений в условиях *in vitro* приводит к ряду анатомических и физиологических особенностей строения листьев и корневой системы. Листья имеют слабо развитую паренхиму и устьичный аппарат, что приводит к невысокой фотосинтетической способности и потере большого количества воды, что, в свою очередь, способствует необратимому обезвоживанию растений-регенерантов. Корневая система регенерантов в условиях *in vitro* часто характеризуется отсутствием корневых волосков, а также корней второго порядка (Вечернина и др., 2008; Эрст и др., 2012).

Обычно для адаптации используют почвенные, торфяные субстраты с добавлением песка, перлита и других разрыхляющих компонентов. Первые 4-8 недель поддерживают влажность воздуха около 100 % (Бьядовский и Упадышев, 2020). Однако субстраты нуждаются в дезинфекции, тщательном подборе соотношений компонентов, дополнительной проверке свойств (рН, содержание

питательных веществ и др.), что приводит к дополнительным исследованиям и возрастанию затрат (Деменко и Лебедев, 2011). Одними из перспективных методов адаптации могут стать гидропонный и аэропонный методы выращивания. Это инновационные методы беспочвенного выращивания различных культур, которые с каждым годом становятся все более актуальными в области цветоводства. Преимущества данных методов - обеспечение растений определенным количеством питательных веществ, эффективное использование воды, повышение урожайности и ускорение роста культур. На сегодняшний день существует несколько технологий выращивания ценных ягодных и лекарственных растений в условиях гидропоники: системы глубоководных культур или плавающей платформы (Deep Water Culture, DWC), техника питательного слоя (Nutrient Film Technique, NFT), техника глубинного потока (Deep Flow Technique, DFT), а также система подтопления (приливно-отливная – Ebb & Flow) (Aires, 2018). Особое значение в последние годы придается приливно-отливной системе, так как она обеспечивает корни растения большим количеством кислорода. Гидропонные системы предотвращают накопление болезней, передающихся через почву, позволяют обеспечить непрерывное производство без необходимости ротации или химического контроля. Наиболее критическими показателями при данном методе выращивания являются pH и электропроводность (ЕС). Изменяя состав питательного раствора и регулируя кислотность, можно получить до 100% адаптированных растений (Kavana, 2023).

Эффективность использования метода гидропоники была показана на примере *Rubus arcticus* L., *Fragaria* × *ananassa* (Duchesne ex Weston) Duchesne ex Rozier, *Primula juliae* Kusn. × *Primula vulgaris* Huds, *Ribes aureum* Pursh. и др (Эрст и др., 2012).

В исследовании Макарова и др. (Макаров и др., 2023) питательный раствор подавали в течение 15 мин 6 раз в сутки. Электропроводность раствора варьировала в пределах от 0,8 до 1,8 мСм/см. Первые 10 дней ЕС питательного раствора составляла 0,8 мСм/см, далее в течение следующих 10 дней концентрацию солей

увеличивали до 1,3 мСм/см, а после 20 сут. – до 1,8 мСм/см. рН раствора доводили до 5,8-6,0. Замену питательного раствора проводили каждые 7 дней. В качестве питательного раствора использовали комплексные растворимые удобрения с микроэлементами Yara Ferticare Hydro (NPK 6:14:30) (Yara International, Норвегия) и кальциевой селитры (CaN_2O_6). Показано, что приживаемость микрорастений княженики арктической, выращенных в условиях гидропонной установки, составила 98 %.

Во многих исследованиях установлено, что оптимальный рост растений достигается при использовании двухстадийной адаптации (Эрст и др., 2012). Первые 10 суток используют питательный раствор с увеличенной концентрацией фосфора, что обеспечивает рост корневой системы. Последующие 10 суток – раствор с повышенным содержанием азота, что позволяет получить хорошо развитую вегетативную часть. Для адаптации регенерантов *Rhododendron hybridum* Hort. использовали среду Андерсона, богатую фосфатами. На втором этапе использовали также среду Андерсона, но с увеличенным содержанием NH_4NO_3 (400 мг/л). Культивирование растений-регенерантов *Rhododendron hybridum* сорта 'Cunningham's White' с использованием данной методики позволило получить 100 % адаптированных к условиям выращивания *ex vitro* растений с хорошо развитой корневой системой (Вечернина и др., 2008).

В исследовании Преуша и др. (Preusche et al., 2022) показана возможность культивирования в промышленных масштабах *H. macrophylla* с использованием метода подтопления. В установке использовали торфяной мох сфагнум или инертные субстраты и стандартные удобрения. Растения обрабатывали тремя регуляторами роста (этиленом, салициловой кислотой и метилжасмонатом) с целью увеличения биомассы и, как следствие, ценных химических веществ – гидрангенола и филлодульцина. Однако авторами не раскрывается состав питательного раствора и его характеристики, в связи с чем актуальным является изучение культивирования представителей рода *Hydrangea* L. с применением гидропонных установок.

1.9 Влияние спектрального состава света на рост и развитие растений

Свет является одним из важнейших факторов окружающей среды, влияющих на морфогенез и фотосинтез растений. Различные участки спектра воспринимается растением как сигналы, влияющие на многие аспекты жизнедеятельности растения. Изменения в развитии растений, связанные со светом являются результатом фотоморфогенеза (Папихин и др., 2021). Из всего спектра солнечной радиации для жизни растений особенно важна фотосинтетически активная радиация (380...710 нм) и физиологически активная радиация (300...800 нм). Изменения качества света оказывают глубокое влияние на рост и метаболизм растений (Маляровская и др., 2013). Использование светодиодных светильников становится все более популярным не только для систем внутреннего земледелия, но и в качестве источника света для размножения растений в условиях *in vitro* (Fu et al., 2013; Yang et al., 2018). К основным преимуществам светодиодов перед традиционно используемыми люминесцентными лампами относятся энергетическая эффективность, меньшее тепловыделение, компактные размеры светодиодных модулей, более длительный срок службы по сравнению с другими типами ламп, а также возможность регулировать спектральный состав и интенсивность света в соответствии с конкретными требованиями (Chen et al., 2020). Реакция на разные спектральные области света видоспецифична – но, в целом, красная (R) и синяя (B) области спектра больше всего влияют на морфогенез и фотосинтез (Wang et al., 2015).

Концентрация и состав хлорофилла напрямую влияют на скорость протекания фотосинтеза растений. Разные фотосинтетические пигменты поглощают разный спектр света. Синий свет улучшает экспрессию генов, которые регулируют синтез хлорофилла и способствуют синтезу хлорофилла (Googan et al., 2022). Красный спектр способствует выработке хлорофилла а. Он в большей мере влияет на развитие корневой системы, вытягивание растений, созревание плодов и

цветение. Избыток красной части спектра задерживает процессы образования генеративных органов (Папихин и др., 2021).

В исследовании Гурана и др. воздействие светом различного спектрального состава оказали достоверное влияние на высоту растений, содержание хлорофиллов а и b, общего хлорофилла, каротиноидов и антоцианов и эфирных масел (Gooran et al., 2022). В исследованиях Абиния и др. наблюдали влияние дальнего красного и синего света на развитие, длину побега и корня базилика (Abinaya et al., 2015). Авторами был сделан вывод о том, что максимальная длина стебля достигается при обработке дальним красным светом. Увеличение длины произошло за счет увеличения эндогенного содержания гиббереллина вследствие световой обработки. Гиббереллин влияет на процесс митоза в меристеме, и, как следствие, увеличивает количество клеток. При изучении влияния различных спектров на анатомию и химический состав *Hyllanthus emblica* (амла) было выявлено, что лучшие морфометрические показатели (масса корней, высота побега, количество листьев) достигаются при обработке синим светом (Cristiane et al., 2015). Наибольшее содержание хлорофилла, каротиноидов и антоцианов было получено при применении обработки синим светом по сравнению с другими длинами волн в диапазоне ФАР. Синий свет увеличивал соотношение хлорофилла a/b и повышал активность ферментов, а также влиял на открытие устьиц (Li et al., 2012). Свет стимулирует экспрессию генов, участвующих в пути биосинтеза хлорофилла, или ингибирует гены, кодирующие ферменты, разлагающие хлорофилл, и вызывает накопление хлорофилла в листьях. Синий свет увеличивает концентрацию антоцианов, каротиноидов и хлорофилла по сравнению с контролем (флуоресцентный белый свет). Каротиноиды участвуют в защитных системах, которые постепенно заменяют антоциановую защитную систему молодых листьев по мере их созревания (Gooran et al., 2022).

Хорошо известно, что на процесс адаптации к холоду, помимо низких температур окружающей среды, большое влияние оказывают продолжительность светового дня, циркадные часы, а также интенсивность и спектр падающего света

(Kovács et al., 2020). В исследовании Ахрес и др. определенное соотношение красного и синего спектров эффективно повышало морозоустойчивость всходов ячменя (Ahres et al., 2022). Показано, что свет может сильно влиять на динамику фитогормонов (как АБК, ИУК и цис-зеатин) и содержание липидов, что в конечном итоге приводит к более эффективному предварительному закаливанию.

При культивировании растений *in vitro*, где скорость фотосинтеза ограничена, различные спектры могут сильно влиять на морфогенез различных таксонов. Установлено, что изменение соотношения красного и синего в общем спектре влияет на морфометрические показатели растений чабера садового в культуре *in vitro*. При культивировании под 100% красным спектром формируются высокие растения с длинными междоузлиями и мелкими листьями, сокращение доли красного спектра до 32-60% приводит к получению более низкорослых растений с крупными листьями (Хлебникова и др., 2019).

Наличие синего, зеленого, желтого, оранжевого, красного и дальнего красного спектров важно для роста *Betula pendula* Roth. *in vitro*. Специфические реакции клонов березы (эффекты взаимодействия света клонов) связаны с количеством красного света, а это означает, что необходим индивидуальный подход к определению чувствительности клонов к красному свету для оптимизации размножения. Светодиодные светильники являются оптимальным решением для замены люминесцентных ламп в качестве основного освещения при размножении березы повислой в условиях *in vitro* (Kondratovičs & Zeps, 2022).

В исследовании Муратовой и Мелехова использование светодиодных светильников в целом замедляло рост побегов. Средняя длина побегов ежевики была ниже в вариантах со светодиодным освещением по сравнению с белыми люминесцентными лампами (Мелехов и Муратова, 2021).

Знание специфичных для эксплантов реакций на спектральный состав света и способности светодиодных светильников регулировать световой спектр может не только улучшить размножение регенерантов, но и улучшить их адаптацию к воздействию низких положительных температур.

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ, МЕТОДИКА И УСЛОВИЯ ПРОВЕДЕНИЯ ОПЫТА

Исследования проводили на кафедре декоративного садоводства и газоноведения РГАУ-МСХА им. К. А. Тимирязева, в лаборатории биотехнологии растений и в лаборатории физиологии и иммунитета растений Федерального государственного бюджетного учреждения науки Главного ботанического сада им. Н.В. Цицина Российской академии наук (ГБС РАН) в период 2020- 2024 гг. (рисунки 1, 2).



Рисунок 1- Световая комната
лаборатории биотехнологии растений
ГБС РАН



Рисунок 2- Помещение с
ламинар боксами лаборатории
биотехнологии растений ГБС РАН

Этап адаптации микропобегов проводили в контролируемых условиях помещения фитотрона при лаборатории биотехнологии растений с температурой 23-25°C и влажностью 80%.

Объектами исследований служили перспективные сорта гортензии различных видов:

Hydrangea paniculata Siebold (*H. paniculata*) 7 сортов: 'Candlelight', 'Magical Candle', 'Magical Starlight', 'Polar Bear', 'Praecox', 'Strawberry Blossom', 'Wim's Red'.

H. paniculata 'Candlelight'- растение высотой до 1, 2 м, разрастается до 1 м в ширину. Темно-зеленые листья по краю зубчатые, жилки едва заметны. Соцветия конические крупные до 35 см, состоят из фертильных и стерильных цветков желтовато- зеленого цвета. К началу сезона цветения белые, к осени обретают красную окраску. Выдерживает до -30 °С. Используется в качестве солитера и в групповых посадках (рисунок 3).

H. paniculata 'Magical Candle' (Kees Jan Kraan, Boot & Co Boomkwekerijen B. V., Netherlands, 2006) - куст достигает высоты до 1, 5 м, в ширину- 1, 3 м. Ветвление боковое слабое. Компактность кусту придают соцветия, развивающиеся на сильных вертикальных побегах. Форма соцветий- широко-пирамидальная, соцветия достигают 25 см в длину. Окраска белая с незначительным оттенком лаймового цвета, переходящая в нежно- розовый, а к концу цветения в насыщенный цвет. Сорт с высокой зимостойкостью (выдерживает до -30 °С). Цветет с июля по сентябрь. Сорт подходит для групповых и солитерных посадок, в качестве живой изгороди (Смирнова, 2023) (рисунок 4).



Рисунок 3- Цветение *H. paniculata* 'Candlelight'



Рисунок 4- Цветение *H. paniculata* 'Magical Candle'

H. paniculata 'Magical Starlight' (Kolster B.V., Netherlands, 2006) - кустарник высотой до 1, 5 м, шириной 1, 2 м. Конусовидное соцветие состоит из стерильных и фертильных цветков. Лепестки в цветке расположены в одной плоскости. Цветки

напоминают по форме звезду. Соцветия белоснежного цвета. Листья удлинено-эллиптические с сильно заостренной вершиной. Побеги к периоду одревеснения обретают красно- бурую окраску. Цветет с середины июля до конца сентября. Используется в качестве солитера в групповых посадках (Смирнова, 2023) (рисунок 5).

H. paniculata 'Polar Bear' (Arie J. Bregman, Benthuisen, Netherlands, 2010) - высота куста до 1,9 м, ширина- 1,8-2,0 м. Соцветия крупные до 40 см, плотные. Состоит из стерильных цветков с четырьмя крупными зубчатыми лепестками. Листья с мелкопильчатым краем. Зацветает в нежно- фисташковом оттенке, к пику цветения становится белым и к осени- слегка розовым. Побеги ярко- коричневого цвета. Подходит для одиночных посадок и живой изгороди (Смирнова, 2023) (рисунок 6).



Рисунок 5- Цветение *H. paniculata* 'Magical Starlight'



Рисунок 6- Цветение *H. paniculata* 'Polar Bear'

H. paniculata 'Praecox' (Charles S. Sargent, USA, 1893) - один из старейших сортов, который был получен из семян, привезенных Чарльзом Саргентом в XIX веке из острова Хоккайдо. Быстрорастущий кустарник, достигает высоты до 2 м. Один из самых раннецветущих сортов, цветение начинается с конца июня. Соцветия состоят из стерильных и фертильных цветков белого цвета. Окраска

сохраняется до поздней осени. Неприхотливый сорт, который хорошо подойдет для любых посадок. Зимостойкость высокая- выдерживает до -35°C (рисунок 7).

H. paniculata 'Strawberry Blossom' (Alex Schoemaker, Living Creations B.V., Netherlands, 2017) - кустарник высотой и шириной до 1, 2 м. Имеет плотные крупные соцветия до 30 см в длину. Цветки стерильные. Отличительная особенность сорта- окраска. Зацветает сорт в белой окраске и уже через несколько недель основание соцветия окрашивается в рубиновый цвет, а кончик соцветия до конца цветения остается белым. Побеги прочные, красно- коричневого цвета, куст округлой формы. Цветет с 1 декады июля по сентябрь. Сорт с высокой зимостойкостью (выдерживает до -30°C), дает яркий акцент в любой ландшафтной композиции (рисунок 8).



Рисунок 7- Цветение *H. paniculata* 'Praecox'



Рисунок 8- Цветение *H. paniculata* 'Strawberry Blossom'

H. paniculata 'Wim`s Red' (Wim A.M. Rutten, Oprins Plants N.V., Belgium, 2004) - взрослый куст достигает 2, 0 м в высоту. Побеги прямые, жесткие, за счёт этого и достигается красивая прямостоячая форма куста. Узкопирамидальные соцветия состоят как из фертильных, так и их стерильных ажурных ароматных цветков. Окраска в начале цветения белая, к концу- насыщенно вишневая. Самый длительно цветущий кустарник. Используется в групповых и солитерных посадках. Зимостойкость высокая- выдерживает до -35°C (рисунок 9) (Смирнова, 2023).



Рисунок 9- Цветение *H. paniculata* 'Wim`s Red'

Hydrangea arborescens L. (*H. arborescens*) 3 сорта: 'Annabelle', 'Bella Anna', 'Sterilis.

H. arborescens 'Annabelle' (Harriet Kirkpatrick, Illinois, USA, 1910) - самый известный и самый распространенный в мире сорт. Достигает высоты 1,8 м, в ширину до 3 м. Куст очень раскидистый за счет полегающих слабых побегов. В связи этим возникает необходимость ежегодной сильной обрезки, благодаря которой соцветия могут достигать до 35 см в диаметре. Окраска цветков белая, соцветие щитковидное. Цветет с июня по сентябрь. Сорт неприхотлив в агротехнике выращивания и очень зимостоек (до -35 °С) (рисунок 10).

H. arborescens 'Bella Anna' (Michael A. Dirr, University of Georgia, USA, 2008) – кустарник высотой до 1,8 м и шириной до 1,5 м. Соцветия крупные шаровидные. Отличительная особенность сорта состоит в нетипичной для гортензии древовидной окраске цветка. Соцветие уже при роспуске окрашено в ярко-розовый цвет. Цветок состоит из пяти лепестков с заостренными краями. Куст обладает высокой побегообразовательной способностью. Весной необходима короткая санитарная и формирующая обрезка для скелетообразующих побегов. Зимой выдерживает до -27 °С (рисунок 11).

H. arborescens 'Sterilis'- сорт высотой до 1, 9 м. Соцветия состоят из стерильных цветков. В начале цветения белые цветки обретают зеленоватый оттенок, затем превращаются в чисто-белые и не розовеют. Цветение начинается в июле и заканчивается поздней осенью. Обладает высоким темпом роста. Зимует при $-29\text{ }^{\circ}\text{C}$. Используется в качестве живой изгороди и в групповых посадках (рисунок 12).



Рисунок 10- Цветение *H. arborescens* 'Annabelle'



Рисунок 11- Цветение *H. arborescens* 'Bella Anna'



Рисунок 12- Цветение *H. arborescens* 'Sterilis'

Hydrangea macrophylla Thunb. (*H. macrophylla*) 7 сортов: 'Forever & Ever Pink', 'Forever & Ever Blue', 'Peppermint', 'You and Me «Miss Saori»', 'Bodensee', 'Magical Crystal', 'You and Me Forever'.

H. macrophylla 'Forever & Ever Pink'- кустарник высотой до 100 см. Соцветия шаровидной формы, состоящие из цветков диаметром 5 см. Окраска насыщенно-розовая с желтой сердцевинкой. Форма листьев яйцевидная, темно-зеленого цвета. Цветет с открытым грунтом с июня по сентябрь. Цветет на побегах прошлого и текущего года. Выдерживает до $-24\text{ }^{\circ}\text{C}$ (рисунок 13).

H. macrophylla 'Forever & Ever Blue'- ремонтантный сорт (цветет на побегах прошлого и текущего года), достигает в высоту до 100 см. Диаметр соцветий до 30 см, шаровидная крона. Окраска цветков от темно-голубой до фиолетовой в зависимости от кислотности почвы. Выдерживает до $-23\text{ }^{\circ}\text{C}$ (рисунок 14).



Рисунок 13- Цветение *H. macrophylla* 'Forever & Ever Pink'



Рисунок 14- Цветение *H. macrophylla* 'Forever & Ever Blue'

H. macrophylla 'Peppermint'- кустарник высотой до 90 см. Форма соцветия шаровидная. Соцветия состоят из двухцветных цветков розового цвета с белой каймой. Листья темно- зеленые. Выдерживает до -29°C (рисунок 15).

H. macrophylla 'You and Me «Miss Saori»'- кустарник достигает высоты до 1, 5 м. Соцветия крупные до 35 см. Ремонтантный сорт. Цветки махровые, светло-розовые с затемненными краями. Выдерживает до -23°C (рисунок 16).



Рисунок 15- Цветение *H. macrophylla* 'Peppermint'



Рисунок 16- Цветение *H. macrophylla* 'You and Me «Miss Saori»'

H. macrophylla 'Bodensee'- компактный кустарник, высотой до 50 см. Цветки нежно- голубого цвета, собраны в сферические соцветия. Листья темно- зеленые с зубчатыми краями. Выдерживает до -20°C (рисунок 17).

H. macrophylla 'Magical Crystal'- кустарник высотой до 120 см. Соцветия шарообразной формы до 20 см в диаметре. Начиная с июля цветки преобретают нежно-розовую окраску, лепестки имеют необычный зеленые вкрапления, далее зеленым становится весь лепесток и появляется розовая кайма. Выдерживает до -29 °С (рисунок 18).

H. macrophylla 'You and Me Forever'- компактный кустарник высотой до 80 см и шириной до 100 см. Имеют округлую симметричную крону. Соцветия щитковидные, состоят из махровых цветков розового цвета. Листья темно-зеленые, мелкозубчатые, блестящие (рисунок 19).



Рисунок 17- Цветение *H. macrophylla* 'Bodensee'

Рисунок 18- Цветение *H. macrophylla* 'Magical Crystal'

Рисунок 19- Цветение *H. macrophylla* 'You and Me Forever'

Методика исследований. В работе использовали методику биотехнологических исследований с культурами изолированных тканей и органов растений, основываясь на общепринятых классических приемах (Бутенко, 1999).

Подбор стерилизующих агентов при введении в стерильную культуру *in vitro* представителей рода *Hydrangea* L. При оптимизации методики получения асептической культуры представителей рода *Hydrangea* L. объектами исследований служили:

- *H. paniculata* 6 сортов: 'Candlelight', 'Wim's Red', 'Magical Candle', 'Praecox', 'Strawberry Blossom', 'Magical Starlight';

- *H. arborescens* 3 сорта: 'Sterilis', 'Bella Anna', 'Annabelle';

- *H. macrophylla* 5 сортов: 'Forever & Ever Pink', 'Forever & Ever Blue', 'Peppermint', 'You and Me «Miss Saori»', 'Bodensee';

В качестве первичных эксплантов использовали узловые сегменты побегов текущего года с одним междоузлием. Черенки нарезают в первой декаде июня 2020-2021 гг. с маточных растений, выращиваемых в условиях открытого грунта.

При получении асептической культуры *in vitro* сначала нарезают побеги размером 2-3 см, затем отмывают их с помощью моющего дезинфицирующего средства, далее промывают в течение 30 минут под проточной водой, затем побеги замачивают на 15 минут в растворе фунгицида системного действия «Чистоцвет» (действующее вещество дифеноконазол).

Стерилизацию эксплантов проводят в асептических условиях ламинарного бокса. Микрочеренки обрабатывают в растворе фунгицида системного (ф.с.д.) «Чистоцвет» (2%), растворе этанола (C_2H_6O) (70%), растворе гипохлорита кальция $Ca(ClO)_2$ (7%), растворе дезинфицирующего средства «Лизоформин 3000» (действующее вещество хлорид дидецилдиметиламмония) в различных экспозициях и модификациях (таблица 2). Далее проводят трехкратную промывку в стерильной воде.

Таблица 2 – Варианты обработки стерилизующими растворами при получении асептической культуры гортензии

Вариант обработки стерилизаторами	Длительность экспозиции, мин.
ф.с.д. «Чистоцвет» 2% раствор (контроль)	15
ф.с.д. «Чистоцвет» 2% раствор	15
C_2H_5OH 70 % раствор	2
$Ca(ClO)_2$ 7% раствор	7
ф.с.д. «Чистоцвет» 2% раствор	15
$Ca(ClO)_2$ 7% раствор	7
ф.с.д. «Чистоцвет» 2% раствор	15
C_2H_5OH 70 % раствор	2
ф.с.д. «Чистоцвет» 2% раствор	15
«Лизоформин 3000» 3% раствор	3

Затем микропобеги помещали на питательную среду Murashige and Skoog (MS), содержащую следующие вещества (мг/л): тиамин (B1), пиридоксин (B6),

никотиновая кислота (PP) – по 0, 25; мезоинозитол – 100; сахароза – 30000, агар-агар – 7000. Первичные экспланты характеризовались высоким уровнем инфицированности. Для большей эффективности стерилизации растительного материала дополнительно использовали в составе питательной среды антибиотик Gentamicin в концентрации 0, 5 мг/л. Контроль- обработка эксплантов ф.с.д. «Чистоцвет». Регенеранты культивировали в условиях световой комнаты при освещении 2000 – 3000 ЛК и фотопериоде 16/8 часов, при температуре +23...+25°C.

Учет стерильных эксплантов проводили на 30 сутки субкультивирования, при этом учитывали долю жизнеспособных эксплантов. Повторность опыта 3-х кратная по 20 эксплантов в повторности.

Подбор оптимального минерального состава питательных сред на этапе собственно микроразмножения. Изучали морфогенетический потенциал следующих объектов исследований:

- *H. paniculata* 2 сорта: 'Magical Candle', 'Candlelight';
- *H. arborescens* 2 сорта: 'Annabelle', 'Bella Anna';
- *H. macrophylla* 2 сорта: 'Forever & Ever Blue', 'Peppermint'.

На этапе собственно микроразмножения использовали питательные среды QL, MS, WPM и B5, содержащие следующие вещества (мг/л): тиамин (B1), пиридоксин (B6), никотиновая кислота (PP) – по 0, 25; мезоинозитол – 100; сахароза – 30000, агар-агар – 7000. В качестве источника цитокинина использовали 6-бензиламинопуридин (6-БАП) в концентрации 0,5 мг/л. Контроль- питательная среда MS. Регенеранты культивировали в условиях световой комнаты при освещении 2000 – 3000 ЛК и фотопериоде 16/8 часов, при температуре +23...+25°C.

По истечении 30 суток измеряли высоту микропобегов и подсчитывали коэффициент размножения исследуемых сортов. Коэффициент размножения находили, как произведение числа микропобегов и количества междоузлий. Повторность опыта 3-х кратная по 15 эксплантов в повторности.

Подбор оптимальной концентрации 6- БАП и ГК 3 на этапе собственно микроразмножения. Изучали морфогенетический потенциал следующих представителей рода *Hydrangea* L.:

- *H. paniculata* 5 сортов: 'Candlelight', 'Wim's Red', 'Praecox', 'Polar Bear', 'Magical Candle';

- *H. arborescens* 3 сорта: 'Annabelle', 'Bella Anna', 'Sterilis';

- *H. macrophylla* 3 сорта: 'Peppermint', 'Bodensee', 'Forever & Ever Blue'.

На этапе собственно микроразмножения использовали питательную среду MS, содержащую следующие вещества (мг/л): тиамин (B1), пиридоксин (B6), никотиновая кислота (PP) – по 0, 25; мезоинозитол – 100; сахароза – 30000, агар-агар – 7000. В качестве регуляторов роста использовали 6-БАП в концентрациях 0,5 мг/л, 1 мг/л и 2 мг/л и ГК 3 в концентрациях 0,5 мг/л и 1 мг/л. Контроль-питательная среда без содержания гормонов. Регенеранты культивировали в условиях световой комнаты при освещении 2000 – 3000 ЛК и фотопериоде 16/8 часов, при температуре +23...+25°C.

По истечении 30 суток измеряли высоту микропобегов и подсчитывали коэффициент размножения исследуемых сортов. Коэффициент размножения находили, как произведение числа микропобегов и количества междоузлий. Повторность опыта 3-х кратная по 15 эксплантов в повторности.

Влияние источника углеводного питания на морфогенетический потенциал при применении на этапе собственно- микроразмножения. Изучали влияние источника углеводного питания на морфогенетический потенциал следующих представителей рода *Hydrangea* L.:

- *H. paniculata* 2 сорта: 'Candlelight', 'Wim's Red';

- *H. arborescens* 2 сорта: 'Bella Anna', 'Annabelle';

- *H. macrophylla* 2 сорта: 'Peppermint', 'Bodensee'.

Использовали модифицированную питательную среду с минеральной основой MS, содержащую следующие вещества (мг/л): тиамин (B1), пиридоксин (B6), никотиновая кислота (PP) – по 0, 25; мезоинозитол – 100; агар-агар – 7000;

цитокинин 6-БАП в концентрации 0,5 мг/л с добавлением различных углеводов: сахара- 30 г/л, глюкоза 30 г/л. Регенеранты культивировали в условиях световой комнаты при освещении 2000 – 3000 ЛК и фотопериоде 16/8 часов, при температуре +23...+25°C.

По истечении 30 суток измеряли высоту микропобегов и подсчитывали коэффициент размножения исследуемых сортов. Коэффициент размножения находили, как произведение числа микропобегов и количества междоузлий. Повторность опыта 3-х кратная по 20 эксплантов в повторности.

Определение условий длительного депонирования представителей рода *Hydrangea* L. Изучали технологию длительного хранения в условиях *in vitro* сорта *H. paniculata* 'Magical Candle'. Для культивирования регенерантов в условиях длительного хранения при низких положительных температурах использовали специальную методику И.В. Митрофановой (Митрофанова, 2018). Согласно методике, производили следующие операции: регенеранты гортензии предварительно культивировали на питательной среде MS, дополненной 0,5 мг/л 6-БАП. Для длительного хранения (депонирования) использовали микропобеги, состоящие из 1 междоузлия. Экспланты помещали в питательную среду ½ MS, дополненную 6- БАП в концентрации 0,1 мг/л и ретардантами хлорхолинхлоридом (ССС) и паклобутразолом (ПБЗ) в двух концентрациях каждый: 0,2 мг/л и 0,4 мг/л. Контролем являлась питательная среда ½ MS, дополненная 0,1 мг/л 6- БАП без содержания ингибиторов роста.

Часть эксплантов культивировали в условиях световой комнаты при освещении 2000 – 3000 ЛК и фотопериоде 16/8 часов, при температуре +23...+25°C. Другую часть помещали в холодильные камеры марки LIEBHERR FKvsl 4113 (Австрия), интенсивность освещения холодильной камеры составляла 1,25-3,75 мкМ м⁻²с⁻¹, температура +15°C.

Результаты фиксировали через 1, 3, 6 месяцев субкультивирования. Учитывали жизнеспособность эксплантов, высоту микропобега. Повторность опыта 2-х кратная по 30 эксплантов в повторности.

Изучение влияния типа и концентрации ауксинов в составе питательной среды на этапе ризогенеза. Изучали особенности корнеобразования регенерантов гортензии на этапе ризогенеза в зависимости от концентрации ИУК и ИМК в питательной среде:

- *H. paniculata* 3 сорта: 'Candlelight', 'Wim's Red', 'Magical Candle';
- *H. arborescens* 3 сорта: 'Annabelle', 'Bella Anna', 'Sterilis';
- *H. macrophylla* 3 сорта: 'Peppermint', 'Bodensee', 'Forever & Ever Blue'.

После этапа собственно микроразмножения микрочеренки размером 1 см помещали на питательную среду для укоренения. Использовали модифицированную питательную среду с минеральной основой $\frac{1}{2}$ MS, содержащую следующие вещества (мг/л): тиамин (B1), пиридоксин (B6), никотиновая кислота (PP) – по 0, 25; мезоинозитол – 100; сахароза – 20000, агар-агар – 7000, ИУК и ИМК в концентрациях 0,5- 2 мг/л. В качестве контроля использовали питательную среду MS без добавления ауксинов. Регенеранты культивировали в условиях световой комнаты при освещении 2000 – 3000 ЛК и фотопериоде 16/8 часов, при температуре +23...+25°C.

По истечению 14 суток проводили учет укоренившихся растений. Повторность опыта 3-х кратная по 10 эксплантов в повторности.

Подбор оптимального состава субстрата для адаптации микрорастений к нестерильным условиям в помещении фитотрона. После этапа укоренения регенеранты перемещали в помещение фитотрона для адаптации в условиях *ex vitro*:

- *H. paniculata* 2 сорта: 'Candlelight', 'Wim's Red';
- *H. arborescens* 2 сорта: 'Bella Anna', 'Sterilis';
- *H. macrophylla* 2 сорта 'Bodensee', 'Forever & Ever Blue'.

Пересаживали растения с двумя и более листьями и хорошо развитой корневой системой. Корни отмывали от остатков питательной среды в слабом растворе KMnO_4 . Для создания воздухо- и влагопроницаемости субстрата, корни растений-регенерантов оборачивали торфяным мхом или сфагнумом (*Sphagnum*

L.), который также обладает антисептическим свойством. Далее экспланты высаживали в почвенный субстрат, предварительно простерилизованный его при 85- 90°C в течение 2 ч. Растения высаживали в рассадные кассеты 3×2 высотой ячейки 5,5 см. Изучали 2 варианта почвосмеси: 1) смесь верхового торфа с агроперлитом в соотношении 1:1; 2) верховой торф без содержания агроперлита. По истечении 30 дней подсчитали выход жизнеспособных адаптированных растений. Повторность опыта 2-х кратная по 15 растений в повторности.

Подбор субстрата для адаптации микрорастений с использованием гидропонной установки. Изучали адаптационную способность микрочеренков гортензии в условиях гидропоники:

- *H. paniculata* 2 сорта: 'Magical Starlight', 'Magical Candle';
- *H. arborescens* 2 сорта: 'Bella Anna', 'Annabelle';
- *H. macrophylla* 2 сорта: 'You and Me Forever', 'Magical Crystal'.

Использовали гидропонную систему «AirCube Ebb & Flow»- система, основанная на принципе периодического затопления корневой зоны растений питательным раствором (рисунок 20). Гидропонная система состоит из четырехъярусных стеллажей. Расстояние между полками в стеллаже 35 см. Стеллажи оснащены светодиодными лампами LED bar 42W bloom (мощность 42 Вт, спектр 3000К/2100К + красные диоды 660 нм).

Каждый ярус имеет поддон размером 950×540 см, который вмещает 3 кассеты размером 520х310х50 мм (объем ячейки 0,095 л), кассета содержит 48 ячеек.



Рисунок 20 - Гидропонная система «AirCube Ebb & Flow»

Метод заключается в периодическом затоплении и осушении корневую зоны регенерантов, обеспечивая тем самым оптимальное питание и доступ кислорода к корням. Регенеранты вынимали из пробирок, отмывали корни от питательной среды, а затем промывали в течение 5 минут в слабом растворе $KMnO_4$. Кассеты гидропонной установки заполняли различными субстратами: минеральная вата (производитель «Эковер» плотность 0,1 г/см³), агроперлит (фракция 1,25 мм) и кокосовый субстрат (фракция 1 мм). В качестве контроля использовали субстрат-минеральная вата (рисунок 21).



Рисунок 21 -Растения- регенеранты, высаженные в различные субстраты гидропонной установки

Кассеты с регенерантами помещали в культивационное помещение при температуре воздуха +22 °С, температура раствора +20 °С, влажность воздуха – 85 %, рН раствора- 5,8, электропроводность (Е.С.)- 0,9 мС/см. Адаптацию микрочеренков проводили в питательном растворе на основе комплексных удобрений фирмы «Буйские удобрения». Готовили маточные растворы А и Б объемом по 5 литров каждый (приложение А 1). 500 мл маточного раствора растворяли в баке с водой объемом 100 литров. На протяжении всей вегетации растения выращивали при 16-часовом световом периоде. Питательный раствор подавали 2 раз в сутки, в течение 15 минут затопления. Первые 30 дней культивации растений в гидропонной установке электропроводность питательного

раствора составляла 0.9 мСм/см, далее в течение следующих 10 дней концентрацию солей увеличивали до 1.2 мСм/см, а после 40 суток с момента высадки – до 1.5 мСм/см. Уровень кислотности (рН) раствора – 5,8–6,2. Замену питательного раствора проводили каждые 7 дней. Каждые 15 суток проводили учет жизнеспособных растений и фиксировали морфометрические показатели (число листьев, среднюю высоту растений, степень разрастания корневой системы). Повторность опыта 2-х кратная по 12 растений в повторности

Изучение влияния досветки узнеспектральным светом на некоторые биохимические и морфологические показатели листьев регенерантов гортензии. В качестве объекта исследования был взят перспективный сорт зарубежной селекции *H. macrophylla* 'Bodensee'. Из всех изучаемых сортов *H. macrophylla* 'Bodensee' является наименее зимостойким. Международная классификация относит данный сорт к растениям 6 климатической зоны, для сорта допустимая минимальная температура в зимний период составляет - 23, 6 °С. По этой причине было принято решение изучить возможность повышения зимостойкости сорта путем досветки различными спектрами света и кратковременного охлаждения на этапе ризогенеза в условиях *in vitro*. Исследовали сочетание красного (85%) и синего (15%) спектров света в обработке регенерантов. Для досветки использовали следующие источники света: 1) красный и синий свет - светодиодные панели «АгроLux», производящие 85% красного света 630нм и 15% синего света 460нм (пр-во КНР); 2) белый свет - фитолампы «White full», производящие 60% красного света 640нм, 15% синего света 460нм, 15% зеленого света 520нм, 10% дальний красный 740нм. В качестве контроля служили люминесцентные линейные лампы ЛЛ-26/ 36Вт G13 6500К ИЕК со световым потоком 2250 лм. Досветка вариантов опыта проводилась в течение 30 дней по 12 часов в день в дополнение к основному освещению (контроль).

По окончании досветки растения подвергали низкотемпературному стрессу в течение 24 часов при температуре +2 °С. Далее определяли содержание фенолкарбоновых кислот (ФКК) (хлорогеновой, кофейной, феруловой) и

абсцизовой кислоты (АБК). Навеску свежей ткани эксплантов 0,1 г фиксировали и экстрагировали 80% этанолом, очистку упаренного экстракта проводили по модифицированной в лаборатории физиологии и иммунитета растений ГБС РАН методике методом тонкослойной хроматографии (Воронкова и др., 2022). Идентификацию и количественное определение ФКК и АБК проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на изократической системе приборов Стайер, колонка RP-18 с обращенной фазой, по внешнему стандарту (Кондратьева, 2011). Суммы фенольных соединений с реактивом Фолина-Чокальтеу определяли на спектрофотометре Spekol 300, содержание хлорофиллов и каротиноидов определяли на спектрофотометре Shekol 300 в спиртовом растворе (Wellburn, 1994).

Исследование морфометрических и анатомических показателей листьев выполнено на поперечных срезах под микроскопом CX-43 в светлом поле при увеличении объектива x20. Измерения проводили в программе Teledyne Lumenera Infinity Analyze-7 с учетом масштаба изображения. Повторность опыта 3-х кратная биологическая и 5-кратная аналитическая для биохимических показателей, 3-кратная - для морфологических показателей.

Оценка зимостойкости гортензии крупнолистной после досветки различными спектрами света в условиях *in vitro*. Оценивали зимостойкость побегов *H. macrophylla* 'Bodensee' после досветки различными спектрами света. Часть растений укрывали нетканым материалом - лутрасилом плотностью 60 г/м², другую часть растений оставляли на зиму без укрытия. Укрытие снимали в начале апреля после минования заморозков (при среднесуточной температуре выше 0°C). Состояние растений после зимовки оценивали по следующим показателям: процент жизнеспособных побегов, число пробудившихся вегетативных и генеративных почек, прирост побегов в течение месяца. Начальной точкой отсчета прироста взяты почки размером 0,2 см. В качестве контроля служили растения, выращенные в условиях *in vitro* под люминесцентными линейными лампами ЛЛ-26/ 36Вт G13 6500К ИЕК со световым потоком 2250 лм, адаптированные и высаженные в условия открытого грунта с укрытием на зимний период. Повторность опыта 2-х кратная по 10 растений в повторности.

ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Подбор стерилизующих агентов при введении в стерильную культуру *in vitro* представителей рода *Hydrangea* L.

Изучено влияние стерилизующих агентов на выход жизнеспособных стерильных эксплантов гортензии. Применение различных дезинфицирующих агентов совместно с раствором фунгицида системного действия «Чистоцвет» (2%) показало положительный эффект, по сравнению с обработкой регенерантов контрольным вариантом опыта (фунгицид системного действия «Чистоцвет»), доля стерильных жизнеспособных эксплантов в данном контрольном варианте обработки составила 5%, оставшиеся 95% эксплантов были с контаминацией (рисунок 22).

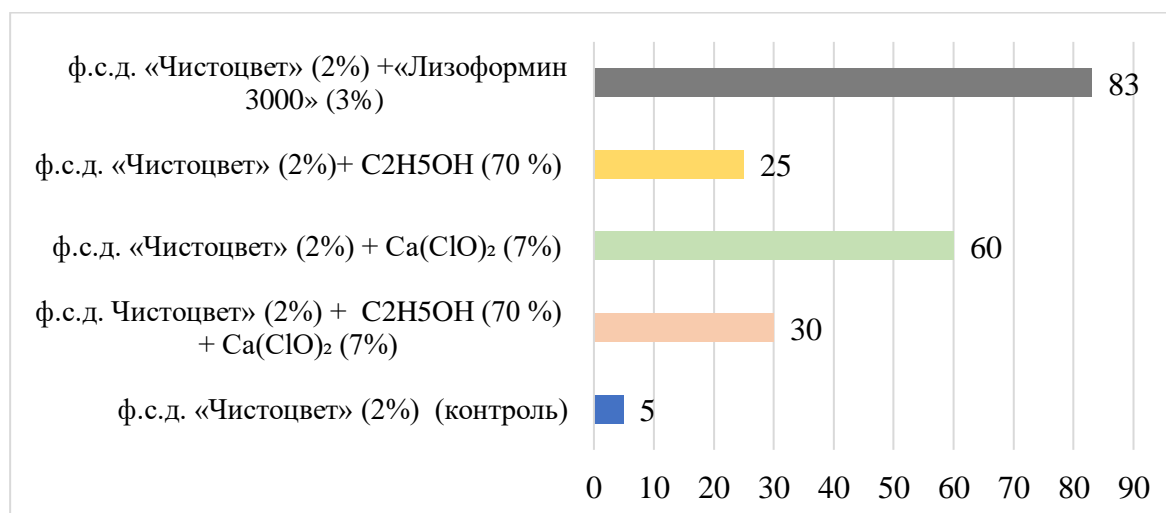


Рисунок 22- Выход жизнеспособных стерильных эксплантов при различных вариантах обработки стерилизующими агентами, %

При двухступенчатой стерилизации раствором фунгицида системного действия «Чистоцвет» (2%) в экспозиции 15 минут и раствором C₂H₅OH (70%) в экспозиции 2 минуты доля жизнеспособных эксплантов составила 25%. Двухступенчатая стерилизация показала низкий уровень эффективности, экспланты имели некротические ожоги. При проведении трёхступенчатой обработки регенерантов растворами: фунгицида системного действия «Чистоцвет» (2 %) в экспозиции 15 минут, C₂H₅OH (70 %) в экспозиции 2 минуты, Ca(ClO)₂ (7%)

в экспозиции 7 минут было получено 30% жизнеспособных стерильных эксплантов. В результате трёхступенчатой обработки 70% эксплантов контаминированы грибной и бактериальной инфекцией. В результате исследований было выявлено, что для всех исследуемых объектов наиболее оптимальной является 2-х ступенчатая стерилизация эксплантов: обработка раствором фунгицида системного действия «Чистоцвет» (2%) в экспозиции 15 минут совместно с раствором дезинфицирующего препарата «Лизоформин 3000» (3%) в экспозиции 3 минуты. Этот вариант обработки показал наиболее высокий выход жизнеспособных стерильных эксплантов - 83%.

При изучении выхода жизнеспособных стерильных эксплантов различных видов гортензии при 2- ступенчатой обработке раствором фунгицида системного действия «Чистоцвет» (2%) в экспозиции 15 минут совместно с раствором дезинфицирующего препарата «Лизоформин 3000» (3%) в экспозиции 3 минуты было установлено, что наиболее жизнеспособными оказались экспланты *H. macrophylla* – 87%, наименее- экспланты *H. arborescens* (74% жизнеспособных стерильных эксплантов), доля жизнеспособных стерильных эксплантов *H. paniculata* составила 79% (рисунок 23).

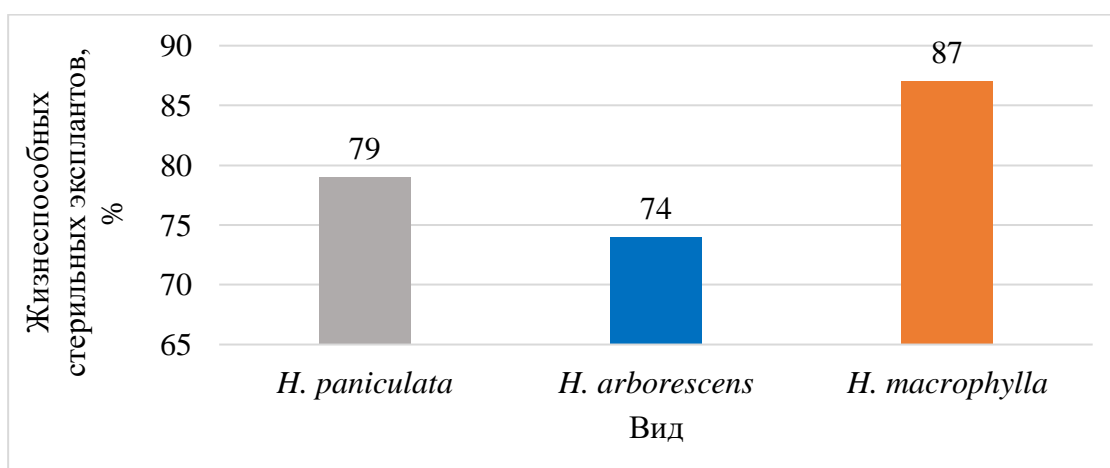


Рисунок 23- Выход жизнеспособных стерильных эксплантов среди исследуемых видов гортензии, %

При проведении учетов стерильных жизнеспособных эксплантов *H. paniculata* было установлено, что среди исследуемых объектов наибольшей жизнеспособностью характеризовались сорта: 'Strawberry Blossom' (87%), 'Magical

'Starlight' (82%), 'Praecox' (79%). Относительно более низкую жизнеспособность продемонстрировали сорта: 'Candlelight' (75%), 'Magical Candle' (73%) (рисунок 24).

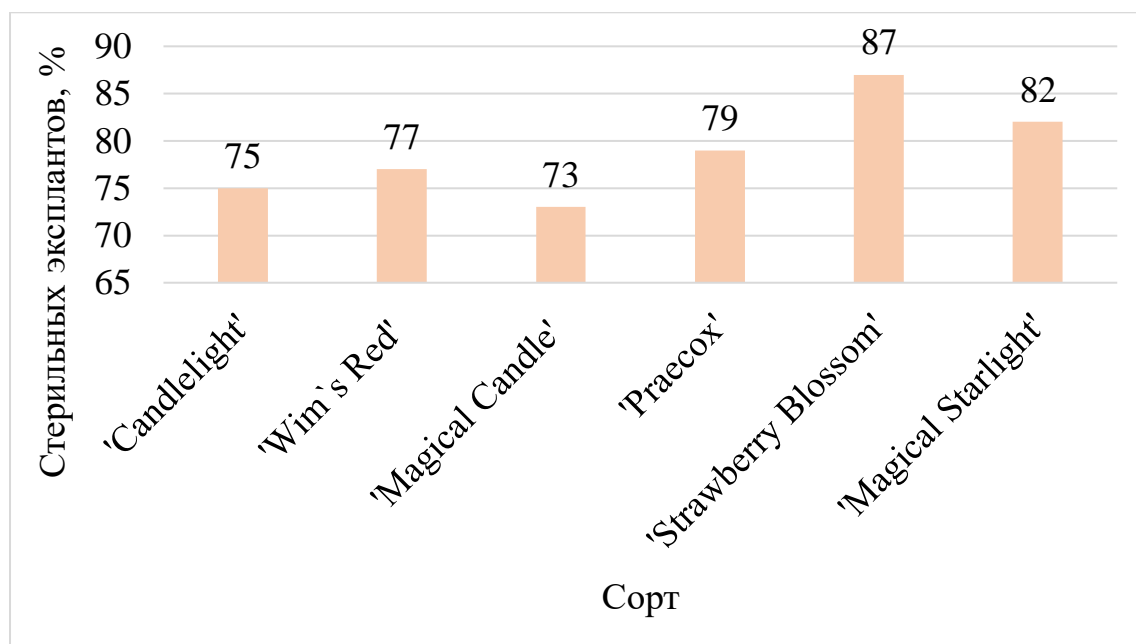


Рисунок 24- Выход жизнеспособных стерильных эксплантов сортов *H. paniculata*, %

Количество жизнеспособных стерильных эксплантов сортов *H. arborescens* варьировало от 72% до 76% (рисунок 25). Относительно высокую долю жизнеспособных стерильных эксплантов продемонстрировали сорта 'Sterilis' (76 %), 'Annabelle' (74 %), а относительно низкую - 'Bella Anna' (72 %).

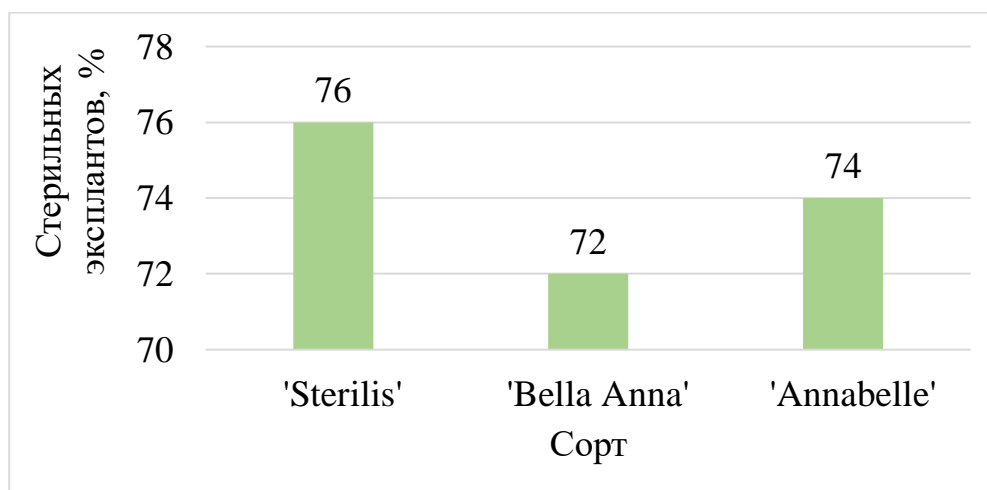


Рисунок 25- Выход жизнеспособных стерильных эксплантов сортов *H. arborescens*, %

При двухступенчатой обработке фунгицидом системного действия «Чистоцвет» (2%) в экспозиции 15 минут и раствором дезинфицирующего

препарата «Лизоформин 3000» (3%) в экспозиции 3 минуты наибольшей жизнеспособностью обладали следующие сорта *H. macrophylla*: 'Forever & Ever Blue' (94%), 'Peppermint' (91%); 'Forever & Ever Pink' (89%), наименьшей- 'You and Me «Miss Saori»' (78%), 'Bodensee' (82%) (рисунок 26).

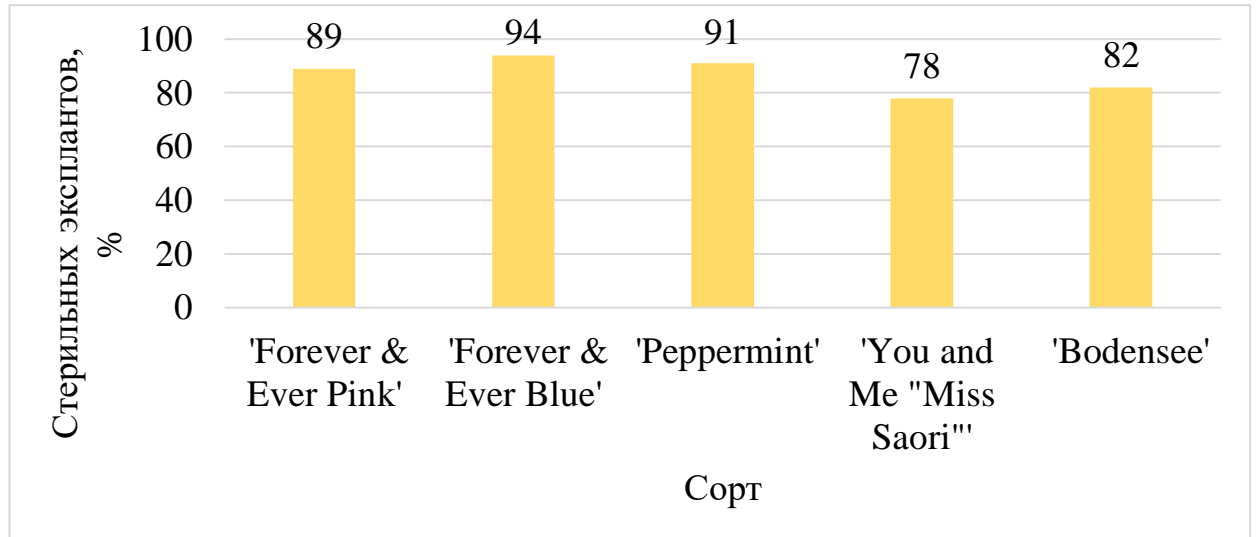


Рисунок 26- Выход жизнеспособных стерильных эксплантов сортов *H. macrophylla*, %

Таким образом, в результате исследований было выявлено, что наиболее оптимальной для получения максимального количества стерильных жизнеспособных эксплантов является двухступенчатая стерилизация эксплантов: совместная обработка раствором фунгицида системного действия «Чистоцвет» (2%) в экспозиции 15 минут с раствором дезинфицирующего препарата «Лизоформин 3000» (3%) в экспозиции 3 минуты для большинства исследуемых сортов гортензии. При этом установлено, что имеются видовые и сортовые особенности реакции на применение этой комбинации стерилизующих агентов. Относительно более высокий уровень жизнеспособных эксплантов было характерно для вида *H. macrophylla*.

3.2 Совершенствование элементов технологии клонального микроразмножения растений рода *Hydrangea* L. на этапе собственно микроразмножения

3.2.1 Подбор оптимального минерального состава питательных сред

Изучали особенности культивирования представителей рода *Hydrangea* L. на этапе собственно- микроразмножения.

С точки зрения увеличения объемов производства посадочного материала большое значение имеет такой показатель, как коэффициент размножения. В результате анализа выявлено, что коэффициент размножения напрямую зависит от минеральной основы питательной среды (рисунок 27, приложение Б 1). Относительно высокий уровень этого показателя продемонстрировало выращивание регенерантов на питательных средах QL (4,9) и MS (4,6), наименьший- при культивировании на питательной среде WPM (2,7).

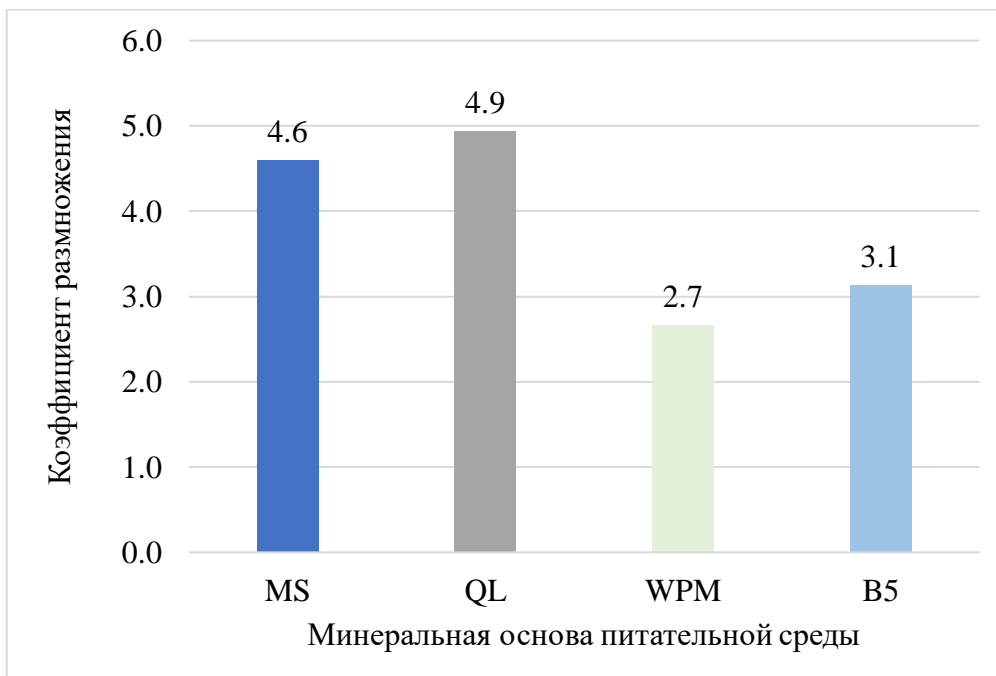


Рисунок 27- Влияние минеральной основы питательной среды на коэффициент размножения представителей рода *Hydrangea* L. ($HCP_{05} = 0,47$)

В результате двухфакторного дисперсионного анализа влияния фактора А (сорт) и фактора В (минеральная основа питательной среды), и взаимодействия двух факторов было выявлено, что наибольшее влияние на коэффициент размножения оказывает случайный фактор (доля влияния 61%), наименьшее – фактор В (минеральная основа питательной среды) (приложение Б2). При сравнительной оценке эффективности размножения отдельных видов установлено, что при культивировании на питательной среде QL наибольшим коэффициентом размножения среди исследуемых видов гортензии характеризуется *H. macrophylla* (6,6), наименьшим – *H. arborescens* при культивировании на питательной среде WPM (2,0) (рисунок 28).

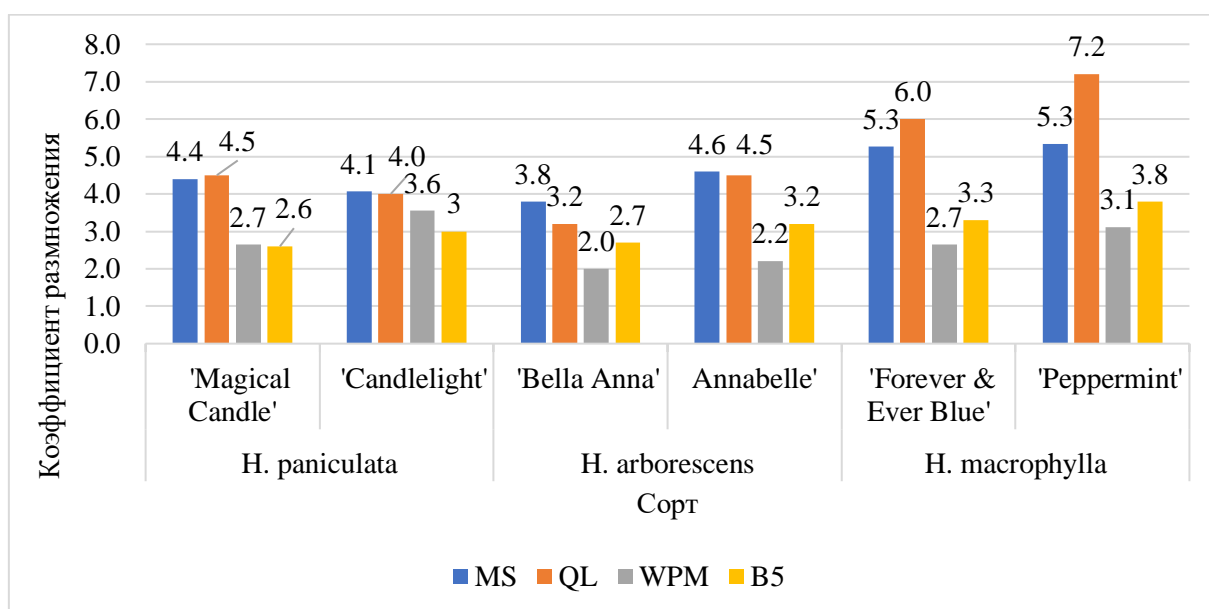


Рисунок 28- Влияние минеральной основы питательной среды на коэффициент размножения исследуемых сортов *Hydrangea L.* L. ($HCP_{05} = 1,59$).

Нами было изучено влияние минеральной основы питательной среды на высоту микропобегов представителей рода *Hydrangea L.* Полученные результаты отражены в таблице 3. Наибольшую высоту микропобегов среди исследуемых объектов наблюдали у представителей *H. arborescens* при культивировании на питательной среде MS ($2,4 \pm 0,2$ см), наименьшая высота микропобегов зафиксирована при культивировании на питательной среде B5 *H. arborescens* ($1,5 \pm 0,1$ см). Разница высоты микропобегов *H. arborescens* при культивировании на питательных средах с различным минеральным составом незначительная. Высота

микропобегов сортов *H. macrophylla* и *H. paniculata* также отличалась незначительно при культивировании на исследуемых питательных средах.

Таблица 3- Влияние минеральной основы питательной среды на высоту микропобегов представителей рода *Hydrangea* L.

Вид	Высота микропобегов гортензии в зависимости от минеральной основы питательной среды, см			
	MS	QL	WPM	B5
<i>H. paniculata</i>	1,2±0,1	1,3±0,1	1,1±0,1	1,2±0,07
<i>H. arborescens</i>	2,4±0,2	2,3±0,2	2,1±0,1	1,5±0,1
<i>H. macrophylla</i>	1,2±0,07	1,4±0,1	1,1±0,07	1,4±0,07

* результаты выражены как среднее значение ± среднеквадратическое отклонение

Таким образом, наиболее оптимальными питательными средами при культивировании в условиях *in vitro* представителей рода *Hydrangea* L. оказались среды QL и MS (коэффициенты размножения 4,9 и 4,6, соответственно), наименее- WPM и B5 (коэффициенты размножения 2,7 и 3,1, соответственно).

3.2.2 Изучение морфогенетического потенциала представителей рода *Hydrangea* L. при применении регуляторов роста

3.2.2.1 Выявление оптимальной концентрации цитокинина 6-БАП

Изучали влияние цитокинина 6-БАП на коэффициент размножения и высоту микропобегов представителей рода *Hydrangea* L. На основании полученных данных был проведен двухфакторный дисперсионный анализа влияния сорта и концентрации 6-БАП на коэффициент размножения представителей рода *Hydrangea* L. (приложение В 1). На рисунке 29 представлены доли влияния факторов: фактор А (сорт), фактор В (концентрация 6-БАП) и взаимодействие этих факторов на коэффициент размножения представителей рода *Hydrangea* L.

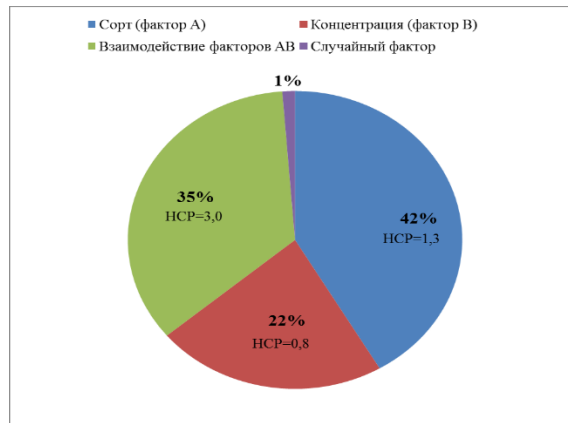


Рисунок 29 – Доля влияние факторов на коэффициент размножения представителей рода *Hydrangea L.*

В результате анализа было выявлено, что наибольшее влияние на коэффициент размножения оказывает фактор А (сорт)- 42%, наименьшее-случайный фактор-1%. Фактор В (концентрация б- БАП)- 22% и доля влияния взаимодействия факторов составила 35%.

Из рисунка 30 видно, что среди изученных сортов *H. paniculata* наибольшим коэффициентом размножения характеризовались сорта 'Wim's Red' (коэффициент размножения составил 11,8) и 'Candlelight' (коэффициент размножения -10,4). Наименьший коэффициент размножения наблюдали у сортов 'Praesox' и 'Polar Bear' (коэффициенты размножения 3,8 и 4,6, соответственно). Сорт 'Sterilis' *H. arborescens* характеризовался наименьшим коэффициентом размножения среди всех объектов исследования- коэффициент размножения составил 2,9. Коэффициент размножения сортов *H. macrophylla* варьировал от 3,8 до 4,6 (Ахметова и др., 2020).

Групповые средние влияния фактора А (сорт) на коэффициент размножения различных видов *Hydrangea L.* представлены на рисунке 31. Согласно гистограмме распределения данных, наибольший коэффициент размножения наблюдали у исследуемых сортов *H. paniculata*- 8,3, наименьший у сортов *H. arborescens*- 3,3, у сортов вида *H. macrophylla* коэффициент размножения составил 4,2. В результате анализа влияния групповых средних по грациям фактора В (концентрация б- БАП) на коэффициент размножения отмечено, что наибольший коэффициент размножения у исследуемых сортов наблюдали при концентрации б-БАП 1 мг/л

(6,9); наименьший- при культивировании на безгормональной питательной среде (3,1).

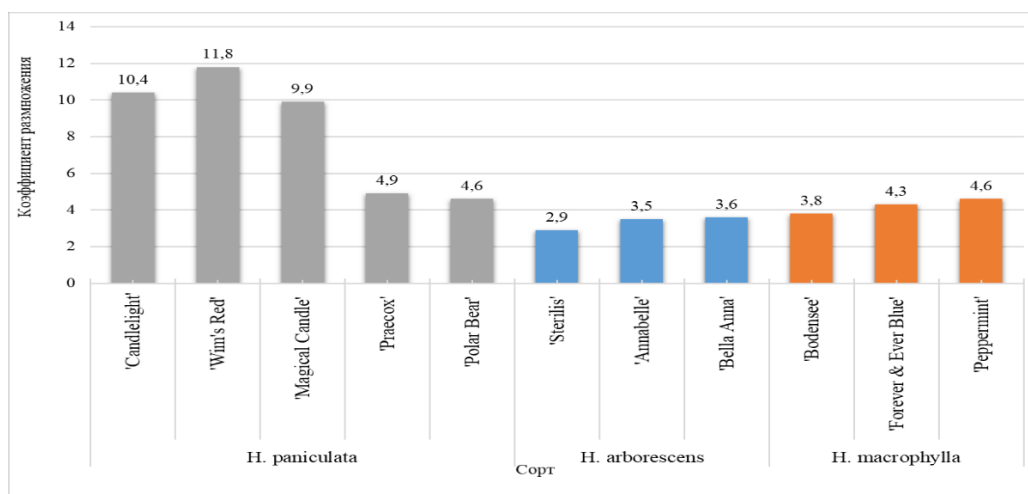


Рисунок 30 - Групповые средние влияние фактора А (сорт) на коэффициент размножения представителей рода *Hydrangea* L. ($HCp_{05}=1,3$)

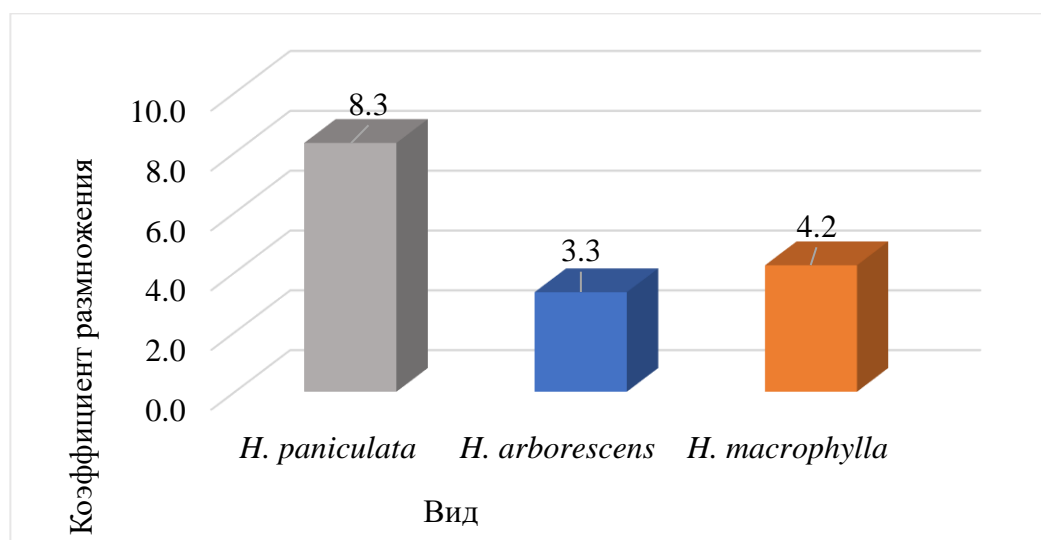


Рисунок 31- Групповые средние влияния фактора А (сорт) на коэффициент размножения различных видов рода *Hydrangea* L. ($HCp_{05}=1,3$)

Наблюдали тенденцию увеличения коэффициента размножения с увеличением концентрации 6-БАП до 1 мг/л, при концентрации 6- БАП 2 мг/л наблюдали уменьшение коэффициента размножения (рисунок 32). Установлено, что регенеранты *H. paniculata* развиваются более активно на стадии микроразмножения по сравнению с регенерантами *H. macrophylla* и *H. arborescens* (Ахметова и др., 2020).

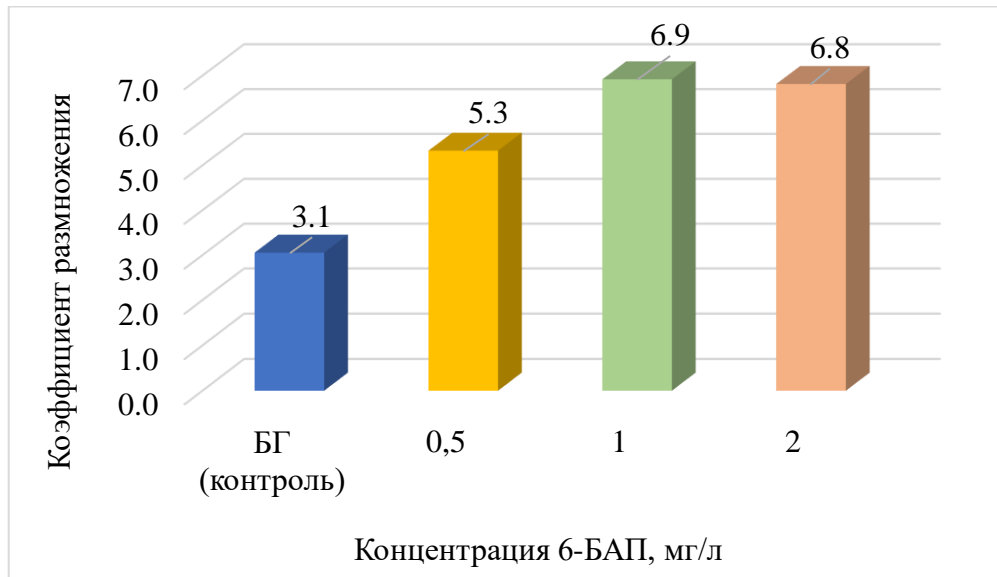


Рисунок 32- Влияние фактора В (концентрация 6-БАП) на коэффициент размножения представителей рода *Hydrangea* L. ($HCp_{05}=0,8$)

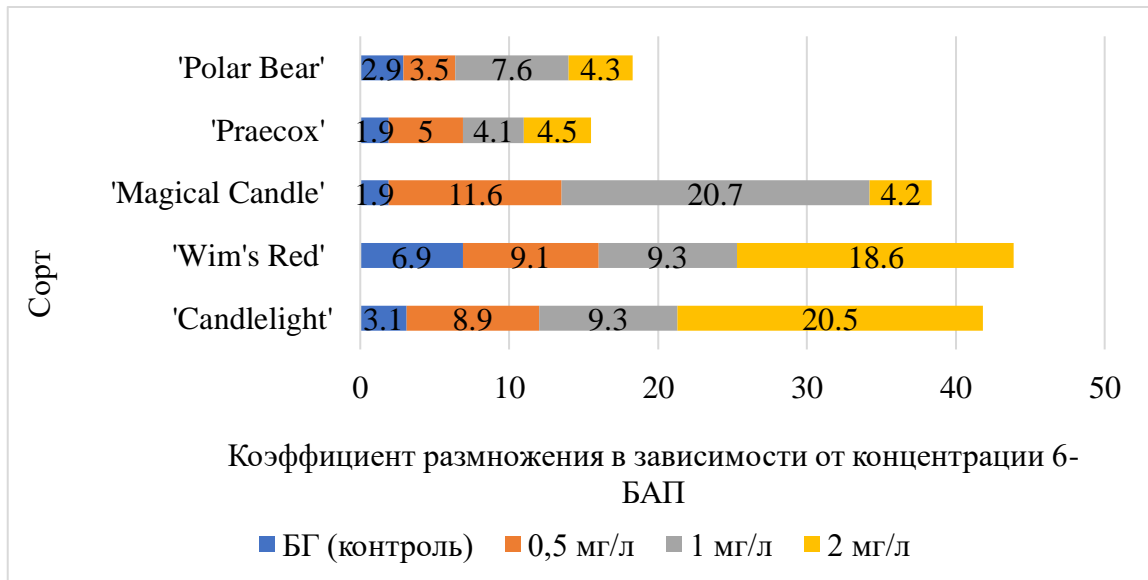


Рисунок 33- Влияние взаимодействия факторов А (сорт) и В (концентрация 6-БАП) на коэффициент размножения представителей *H. paniculata*

На рисунке 33 представлены групповые средние по взаимодействию факторов А (сорт) и В (концентрация 6-БАП) на коэффициент размножения сортов *H. paniculata*. Из гистограммы видно, что коэффициент размножения сортов 'Candlelight' и 'Wim's Red' с увеличением концентрации 6-БАП увеличивался. Сорта 'Polar Bear' и 'Magical Candle' показали максимальные коэффициенты размножения на питательной среде, содержащей 6-БАП в концентрации 1 мг/л, сорт 'Praesox' достиг максимального показателя коэффициента размножения при применении 6-

БАП в концентрации 0,5 мг/л. На всех исследуемых объектах минимальный коэффициент размножения наблюдали при культивировании микрочеренков на безгормональной питательной среде (контроль).

Для представителей *H. arborescens* коэффициент размножения максимален при применении 6-БАП в концентрации 2 мг/л. С увеличением концентрации 6-БАП наблюдали тенденцию к увеличению коэффициента размножения исследуемых сортов *H. arborescens* (рисунок 34).

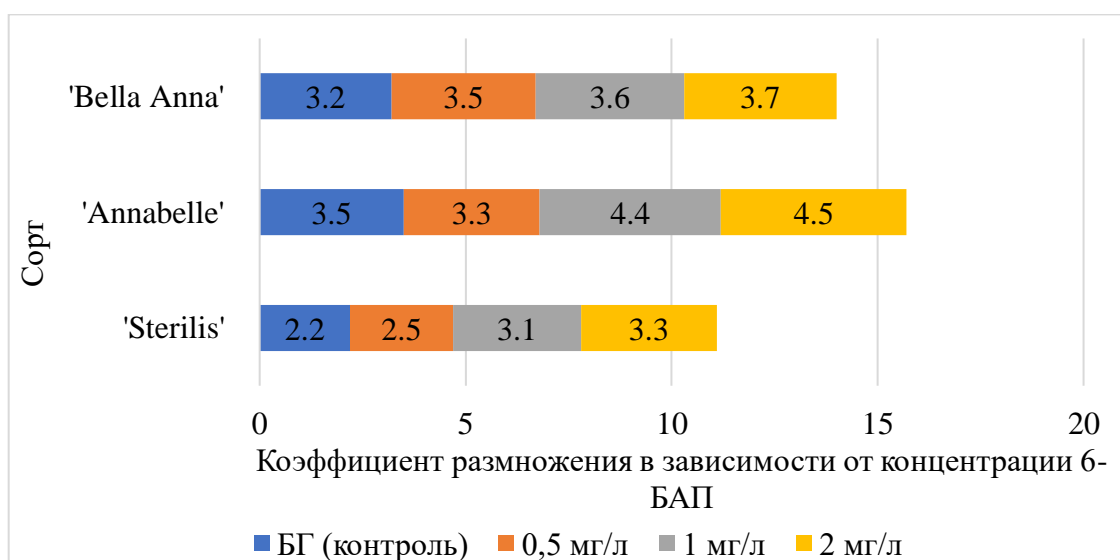


Рисунок 34- Влияние взаимодействия факторов А (сорт) и В (концентрация 6-БАП) на коэффициент размножения представителей *H. arborescens*

Согласно гистограмме распределения групповых средних взаимодействия факторов А (сорт) и В (концентрация 6-БАП) на коэффициент размножения представителей *H. macrophylla* установлено, что наибольший коэффициент размножения наблюдали при культивировании на питательной среде с добавлением 6-БАП в концентрации 1 мг/л, наименьший при культивировании на безгормональной питательной среде. У представителей вида *H. macrophylla* с увеличением концентрации 6-БАП до 1 мг/л увеличивается коэффициент размножения, однако при дальнейшем увеличении концентрации цитокинина до 2 мг/л наблюдали значительное уменьшение коэффициента размножения (рисунок 35) (Ахметова и др., 2020). Таким образом, 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 в разной степени. Наибольшее влияние оказывает фактор А (сорт), наименьшее - случайный фактор. Выявлено, что среди всех исследуемых представителей рода *Hydrangea L.* коэффициент размножения принимает наибольшее значение в концентрации 6-БАП 1 мг/л. У ряда сортов рода *Hydrangea L.* наблюдали тенденцию к увеличению коэффициента размножения с увеличением концентрации цитокинина.

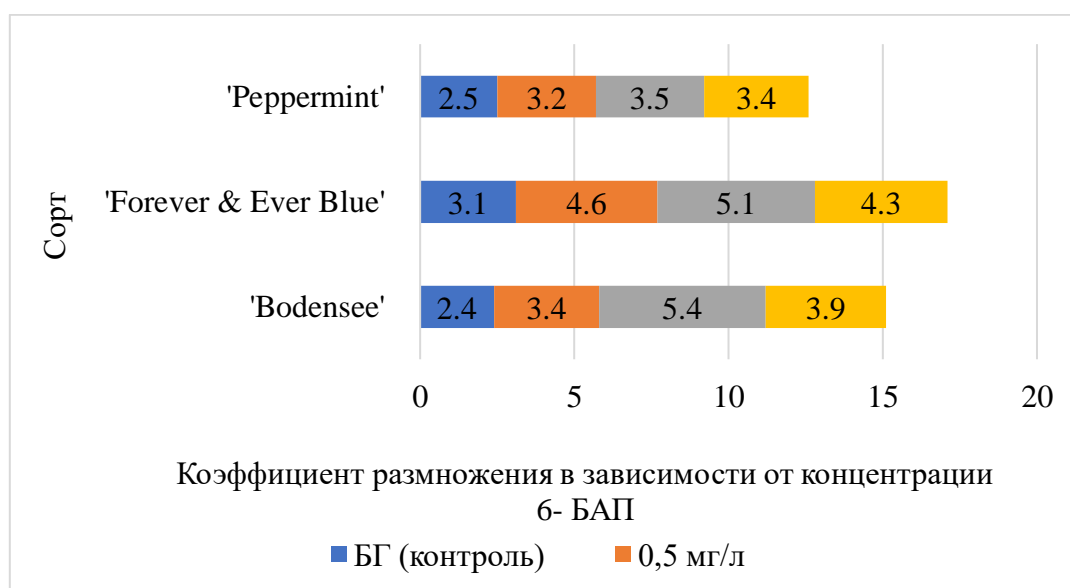


Рисунок 35- Влияние взаимодействия факторов А (сорт) и В (концентрация 6-БАП) на коэффициент размножения представителей *H. macrophylla*

Нами было проанализировано влияние групповых средних по градациям фактора А (сорт) и В (концентрация 6-БАП) на высоту микропобегов представителей рода *Hydrangea L.* (приложение В 2). В результате анализа были выявлено, что наибольшее влияние на высоту микропобегов в равной степени оказывают два фактора: фактор А (сорт) и взаимодействие факторов А и В, доля их влияния составила по 37% каждый. В меньшей степени на высоту микропобегов влияют случайный фактор и фактов В (концентрация 6-БАП)- 13% каждый (рисунок 36) (Ахметова и др., 2020).

Групповые средние по градациям фактора А (сорт) между видами представлены на рисунке 37. Согласно графику, наибольшую высоту микропобегов

наблюдали у сортов *H. arborescens*- 2, 3 см, наименьшую- у сортов *H. macrophylla* (0,8 см), у сортов *H. paniculata* средняя высота микропобегов составила 1,0 см.

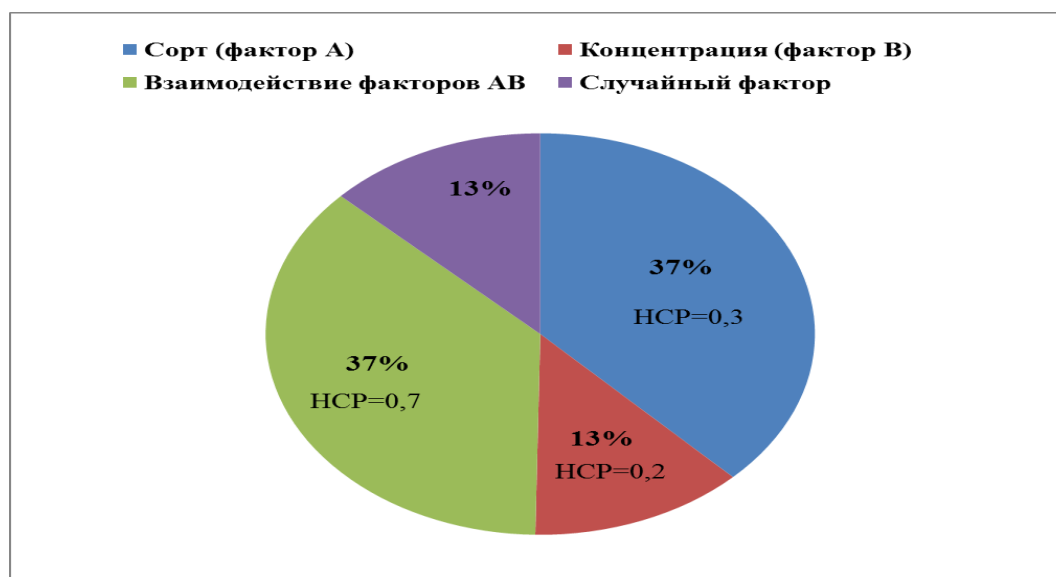


Рисунок 36- Доля влияние факторов на высоту микропобегов представителей рода *Hydrangea* L.

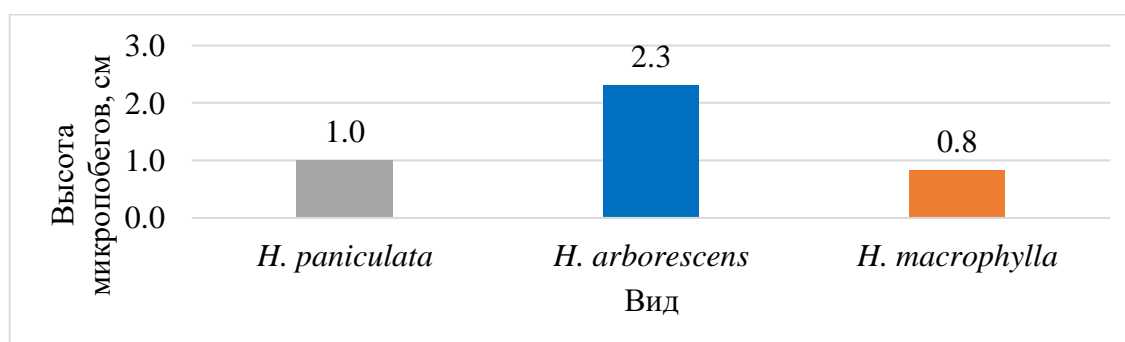


Рисунок 37- Влияние фактора А (сорт) на высоту микропобегов различных видов рода *Hydrangea* L. (HCP₀₅=0,3)

В результате анализа групповых средних по градациям фактора В (концентрация гормона 6-БАП) отмечено, что наибольшую высоту микропобегов у исследуемых сортов наблюдали при добавлении в питательную среду 6-БАП в концентрации 2 мг/л (средняя высота микропобегов 1,49 см), наименьшая высота микропобегов отмечена при культивировании на безгормональной питательной среде (рисунок 38).

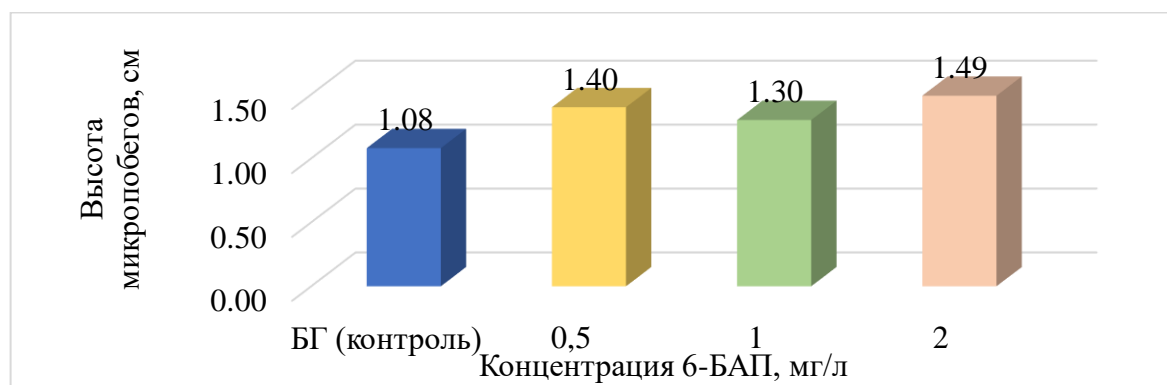


Рисунок 38- Влияние фактора В (концентрация 6-БАП) на высоту микропобегов представителей рода *Hydrangea* L. ($HCР_{05}=0,2$)

Среди изученных сортов *H. paniculata* наибольшей высотой микропобегов характеризовались сорта 'Wim's Red'- $1,63\pm 0,13$ см, 'Polar Bear'- $1,97\pm 0,11$ см, 'Magical Candle'- $1,17\pm 0,08$ см. Наименьшую высоту микропобегов наблюдали у сортов 'Praecox' и 'Candlelight' ($0,64\pm 0,05$ см и $0,59\pm 0,09$ см, соответственно). Высота микропобегов *H. arborescens* варьировала от $1,84\pm 0,05$ см до $3,27\pm 0,07$ см.

Таблица 4- Влияние концентрации 6- БАП на высоту микропобегов представителей рода *Hydrangea* L.

Вид	Сорт	Высота микропобегов <i>Hydrangea</i> L., см			
		Концентрация 6- БАП, мг/л			
		БГ (контроль)	0,5	1	2
<i>H. paniculata</i>	'Candlelight'	$0,77\pm 0,03$	$0,68\pm 0,04$	$0,96\pm 0,23$	$0,59\pm 0,09$
	'Wim's Red'	$1,09\pm 0,36$	$1,29\pm 0,1$	$0,96\pm 0,07$	$1,63\pm 0,13$
	'Magical Candle'	$1,0\pm 0,07$	$0,75\pm 0,06$	$0,99\pm 0,06$	$1,17\pm 0,08$
	'Praecox'	$0,64\pm 0,05$	$0,66\pm 0,05$	$0,7\pm 0,04$	$0,78\pm 0,06$
	'Polar Bear'	$0,93\pm 0,05$	$1,97\pm 0,11$	$1,0\pm 0,06$	$1,46\pm 0,09$
<i>H. arborescens</i>	'Sterilis'	$2,18\pm 0,12$	$2,47\pm 0,09$	$2,26\pm 0,72$	$3,27\pm 0,07$
	'Annabelle'	$2,04\pm 0,05$	$2,17\pm 0,20$	$2,46\pm 0,06$	$2,47\pm 0,07$
	'Bella Anna'	$1,84\pm 0,05$	$2,13\pm 0,04$	$2,17\pm 0,06$	$2,11\pm 0,05$
<i>H. macrophylla</i>	'Bodensee'	$0,22\pm 0,03$	$0,46\pm 0,02$	$0,87\pm 0,07$	$1,06\pm 0,05$
	'Forever & Ever Blue'	$0,85\pm 0,05$	$1,23\pm 0,05$	$1,03\pm 0,04$	$1,17\pm 0,06$
	'Peppermint'	$0,56\pm 0,04$	$0,76\pm 0,05$	$0,68\pm 0,03$	$0,8\pm 0,04$

* результаты выражены как среднее значение \pm среднеквадратическое отклонение

Представители *H. macrophylla* оказались наименьшими по высоте регенерантами среди всех исследуемых сортов: их высота варьировала от $0,22\pm 0,03$ см до $1,23\pm 0,05$ см, что напрямую коррелирует с биологическими особенностями взрослых растений (таблица 4).

Исходя из результатов двухфакторного дисперсионного анализа данных об изменчивости высоты микропобегов представителей рода *Hydrangea* L. в зависимости от факторов А (сорт) и В (концентрация 6-БАП), можно сделать следующие выводы: для всех исследуемых объектов изменение высоты микропобегов в зависимости от 6-БАП являлось сорто- и видо-специфичным (рисунок 39).

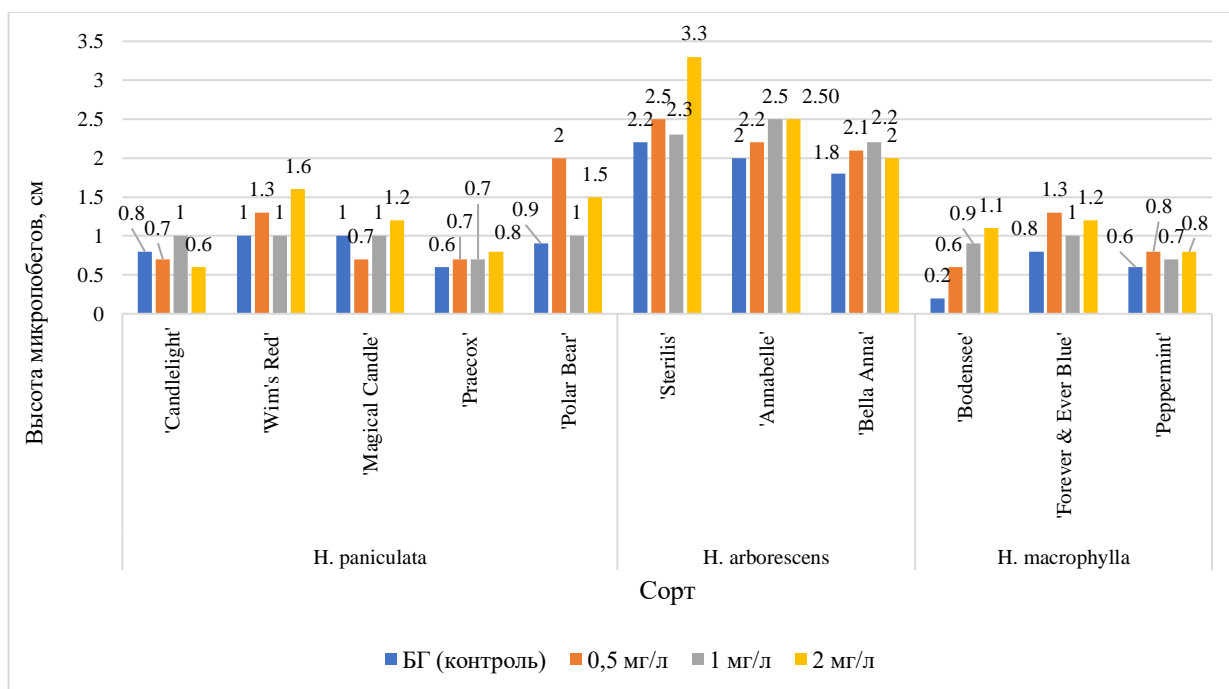


Рисунок 39- Взаимодействие факторов А (сорт) и В (концентрация 6-БАП) на высоту микропобегов сортов рода *Hydrangea* L. ($HCp_{05} = 0,7$)

Таким образом, наибольшая высота микропобегов при культивировании эксплантов на питательной среде с добавлением 6-БАП в концентрации 0,5 мг/л выявлена у сортов: *H. paniculata* 'Polar Bear', *H. macrophylla* 'Forever & Ever Blue', *H. macrophylla* 'Peppermint'; при культивировании эксплантов на питательной среде с добавлением 6-БАП в концентрации 1 мг/л наибольшей высотой характеризовались следующие сорта: *H. paniculata* 'Candlelight', *H. arborescens* 'Annabelle', *H. arborescens* 'Bella Anna'; при культивировании на питательной среде с добавлением 6-БАП в концентрации 2 мг/л наибольшую высоту наблюдали у большинства изученных сортов: *H. paniculata* 'Wim's Red', *H. paniculata* 'Magical Candle', *H. paniculata* 'Praecox', *H. arborescens* 'Sterilis', *H. arborescens* 'Annabelle', *H.*

macrophylla 'Bodensee', *H. macrophylla* 'Peppermint'. Наибольшей высотой растений-регенерантов характеризовались сорта вида *H. arborescens*, самыми низкими показателями высоты- сорта вида *H. macrophylla*, что говорит о сортоспецифичности изучаемых объектов. Установлено, что регенеранты *H. paniculata* развиваются более активно на стадии микроразмножения по сравнению с регенерантами *H. macrophylla* и *H. arborescens*. Это коррелирует с энергией роста вышеупомянутых видов в природных условиях (Ахметова и др., 2020).

3.2.2.2 Подбор оптимальной концентрации гибберелловой кислоты

Проведен сравнительный анализ влияния концентрации гибберелловой кислоты на коэффициент размножения и высоту микропобегов различных сортов гортензии.

На рисунке 40 продемонстрировано развитие эксплантов *H. macrophylla* 'Peppermint' на питательных средах с добавлением различных концентраций ГК 3.

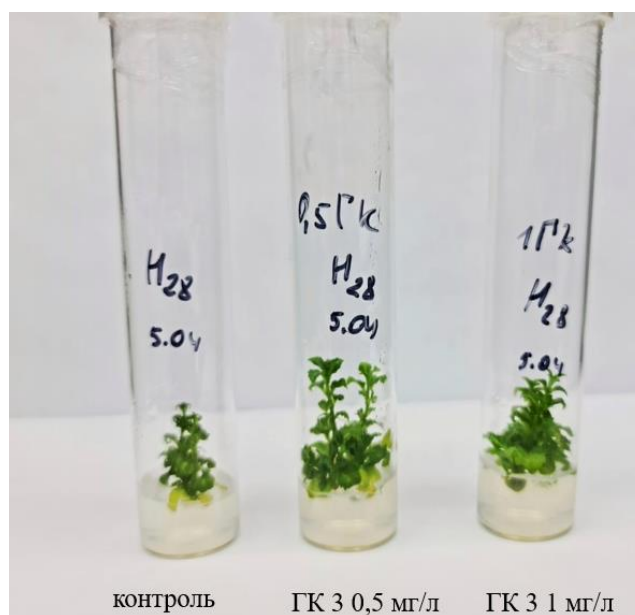


Рисунок 40- Растения-регенеранты *H. macrophylla* 'Peppermint' на этапе собственно микроразмножения при применении различных концентраций ГК 3

Сорт *H. macrophylla* 'Peppermint' характеризовался активным побегообразованием, у некоторых эксплантов наблюдали образование конгломератов микропобегов. Наибольший коэффициент размножения наблюдали при культивировании на питательной среде MS с добавлением ГК 3 в концентрации 1 мг/л, коэффициент размножения составил 10,0 что в 3,3 раза выше, чем без

добавления ГК 3 (коэффициент размножения 3,0) и на 1,2 выше, чем при добавлении ГК 3 в концентрации 0,5 мг/л (рисунок 41, приложение Г1). Доля влияния фактора «концентрация ГК 3» на коэффициент размножения *H. macrophylla* 'Peppermint' составила 58% (приложение Г 2) (Ахметова и др., 2023).

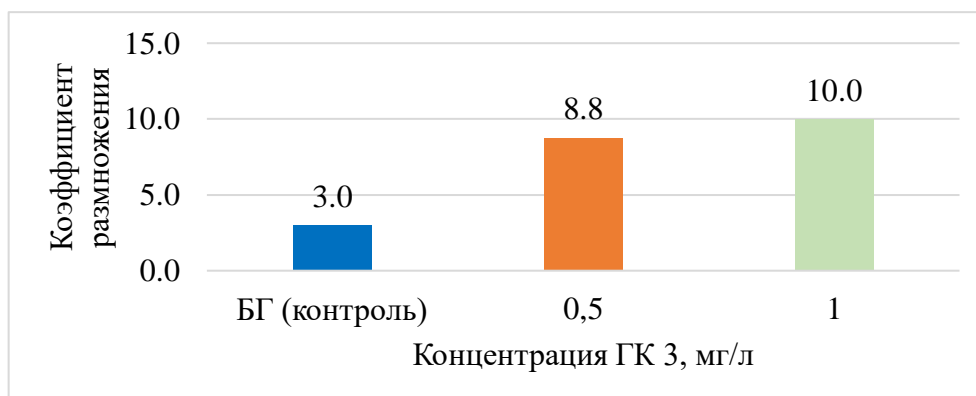


Рисунок 41 - Влияние концентрации ГК 3 на коэффициент размножения *H. macrophylla* 'Peppermint' ($HCp_{05} = 1,70$)

Изучали особенности выращивания в условиях *in vitro* регенерантов *H. paniculata* 'Magical Candle' с применением и без применения ГК 3 (рисунок 42, приложение Г 3).

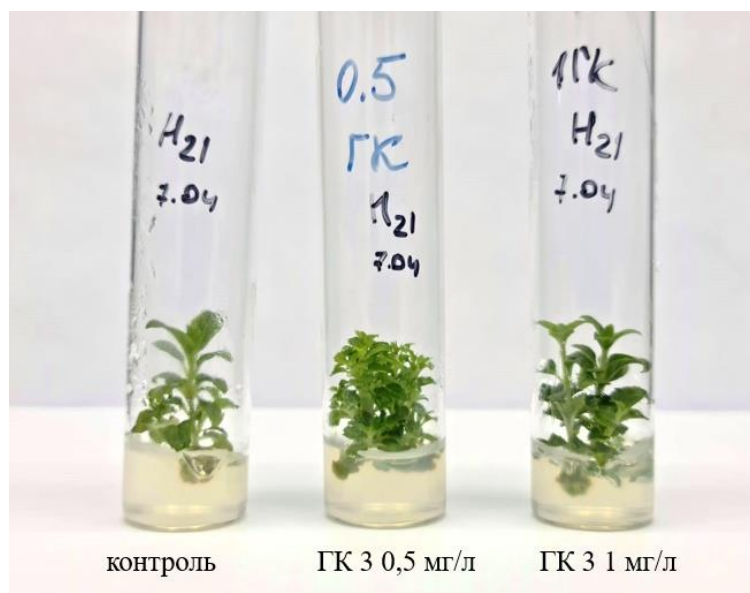


Рисунок 42- Растения- регенеранты *H. paniculata* 'Magical Candle' на этапе собственно микроразмножения при применении различных концентраций ГК 3

В результате статистической обработки данных выяснили, что фактор «концентрация ГК 3» на 51 % влияет на коэффициент размножения *H. paniculata* 'Magical Candle' (приложение Г 4).

Наибольший коэффициент размножения был получен при культивировании в питательной среде с добавлением ГК 3 в концентрации 0,5 мг/л (коэффициент размножения 8,9), наименьший- без применения ГК 3 в питательной среде (коэффициент размножения 2,8) (рисунок 43).

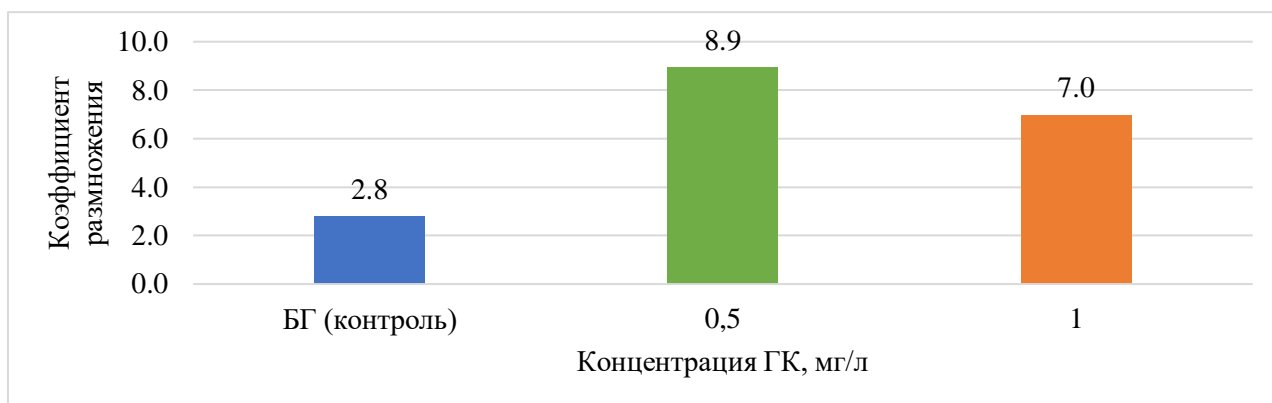


Рисунок 43- Влияние концентрации ГК 3 на коэффициент размножения *N. paniculata* 'Magical Candle' ($HC_{P05} = 1,88$)

В результате исследования влияния ГК 3 на высоту микропобегов изучаемых объектов, было выявлено, что наибольшая высота микропобегов достигается при применении ГК 3 в концентрации 1 мг/л, наименьшая - при применении ГК 3 в концентрации 0,5 мг/л сорта *N. paniculata* 'Magical Candle' (рисунок 44, приложение Г 5). Доля влияния фактора концентрация ГК 3 составила 49 %. Анализ влияния ГК 3 на высоту микропобегов показал, что культивирование на питательной среде с добавлением ГК 3 способствовало увеличению высоты микропобегов сорта *N. paniculata* 'Magical Candle' на 43% по сравнению с контролем (приложение Г 6) (Ахметова и др., 2023)

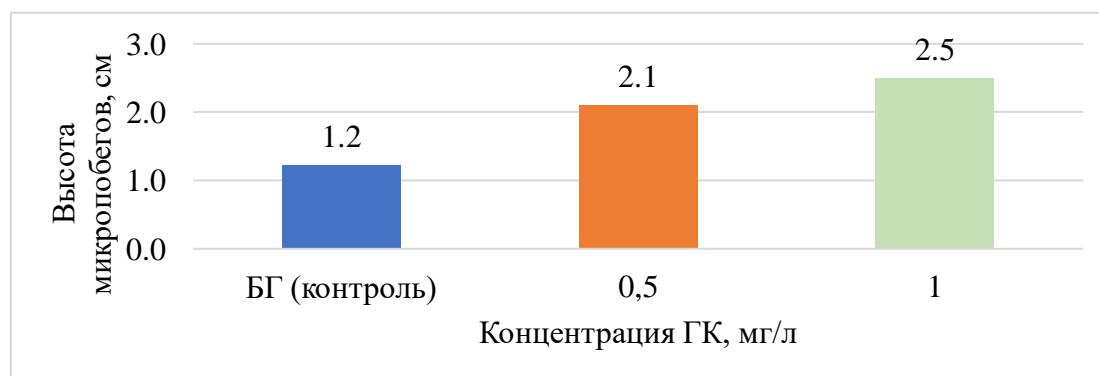


Рисунок 44- Влияние концентрации ГК 3 на высоту микропобегов *N. paniculata* 'Magical Candle' ($HC_{P05} = 0,39$)

На рисунке 45 представлены данные по влиянию различных концентраций ГК на высоту микрочеренков сорта *H. macrophylla* 'Peppermint'. На основании полученных данных и статистического анализа можно констатировать, что при применении гиббереллина не выявило достоверного влияния на высоту микрочеренков ($F_a < F_{05}$, $F_a < F_{01}$) (приложение Г 7).

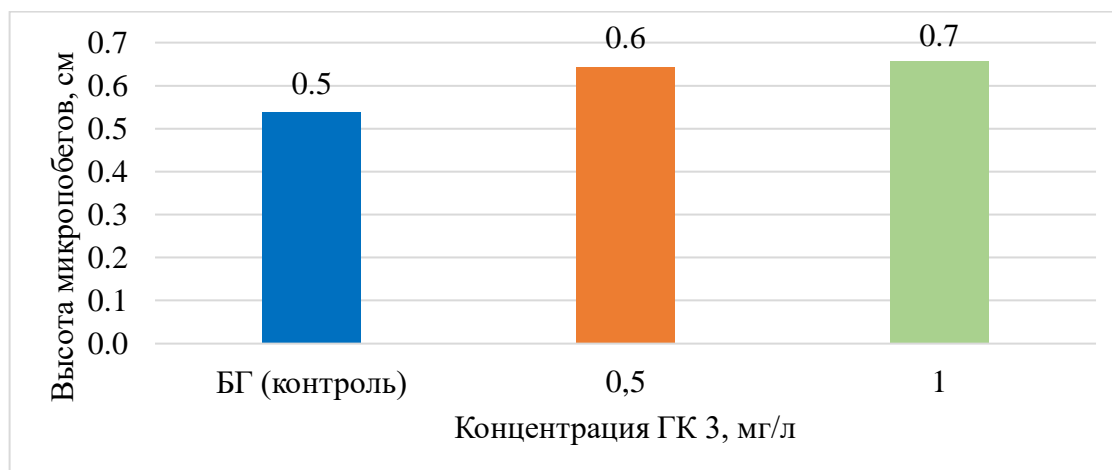


Рисунок 45- Влияние концентрации ГК 3 на высоту микропобегов *H. macrophylla* 'Peppermint'

Таким образом, при исследовании морфогенеза представителей рода *Hydrangea* L. на этапе собственно микроразмножения была выявлена эффективность применения гибберелловой кислоты у сорта *H. paniculata* 'Magical Candle'. Наибольший коэффициент размножения наблюдали при культивировании на питательной среде MS с добавлением ГК 3 в концентрации 0,5 мг/л (коэффициент размножения 8,9), наименьший - без добавления ГК 3 (коэффициент размножения 2,8). У сорта *H. paniculata* 'Magical Candle' отмечено увеличение высоты микропобега с увеличением концентрации гибберелловой кислоты. Коэффициент размножения сорта *H. macrophylla* 'Peppermint' увеличивался с увеличением концентрации ГК 3. Достоверное различие высоты микрочеренков *H. macrophylla* 'Peppermint' не выявлено (Ахметова и др., 2023).

3.2.3 Изучение морфогенетического потенциала представителей рода *Hydrangea* L. при применении различных источников углеводного питания

Важным фактором при изучении морфогенетического потенциала регенерантов является углеводное питание. Нами было изучено влияние типа

углеводного питания в составе питательной среды на морфогенетический потенциал гортензии при клональном микроразмножении с учетом сортовых особенностей. Установлено, что каждый фактор влиял на исследуемые объекты в разной степени. Наибольшее влияние на коэффициент размножения оказывал тип углеводного питания (58%), по сравнению с сортовыми особенностями (4%) и взаимодействием этих двух факторов (23 %). Влияние случайного фактора было незначительным (15%) (рисунок 46, приложение Д 1).

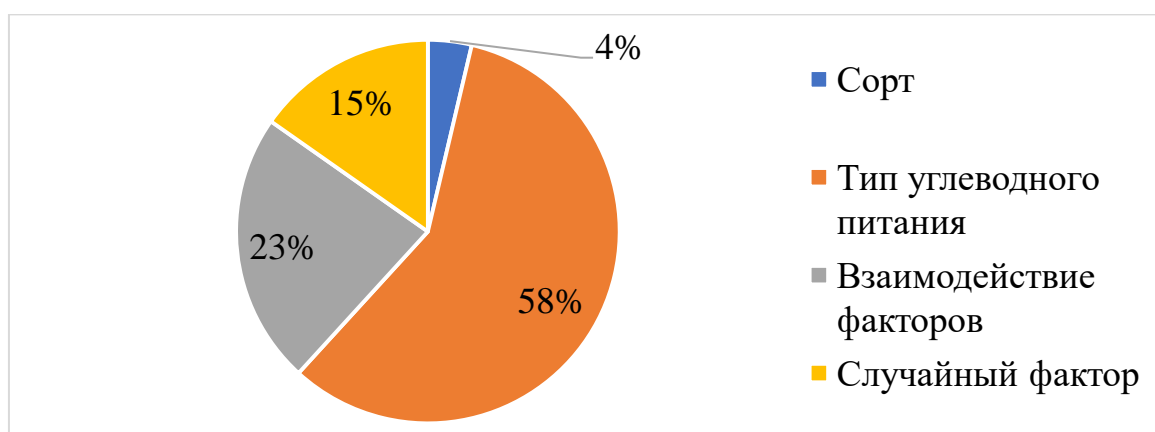


Рисунок 46- Доля влияния исследуемых факторов на коэффициент размножения представителей рода *Hydrangea* L.

Наиболее эффективным оказалось применение в составе питательной среды сахарозы, коэффициент размножения среди всех исследуемых сортов составил 5,49 (рисунок 47).

При изучении зависимости коэффициента размножения от типа углеводного питания было выявлено, что наиболее оптимальным источником углевода для *H. paniculata* и *H. arborescens* является сахароза (коэффициенты размножения составили 5,7 и 6,5, соответственно). Сорта *H. paniculata* характеризовались адвентивным побегообразованием от основания микропобегов, у некоторых регенерантов во всех вариантах опыта наблюдали образование конгломератов (12 – 15 шт.). Низкая эффективность по отношению к показателю коэффициента размножения была выявлена при культивировании на питательной среде, содержащей глюкозу. Коэффициент размножения сортов *H. macrophylla* достигал

максимума при культивировании на питательной среде, содержащей глюкозу, низкие показатели наблюдали у регенерантов, культивируемых на питательной среде с добавлением сахарозы (рисунок 48). Отличительной особенностью сортов *H. macrophylla* 'Bodensee' и 'Peppermint' является образование микропобегов за счет активации пазушных почек на всех вариантах опыта (Крахмалева и др., 2019).

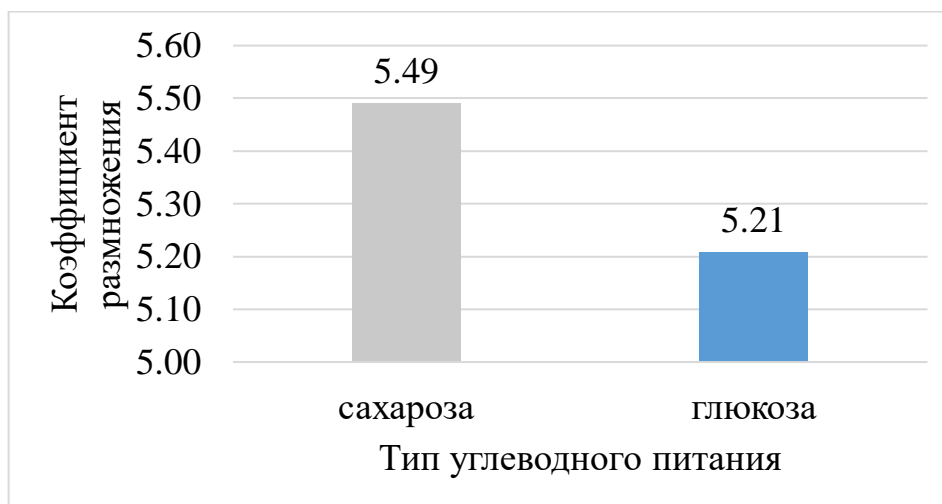


Рисунок 47- Влияние типа углеводного питания на коэффициент размножения исследуемых сортов гортензии ($HCp_{05} = 0,42$)

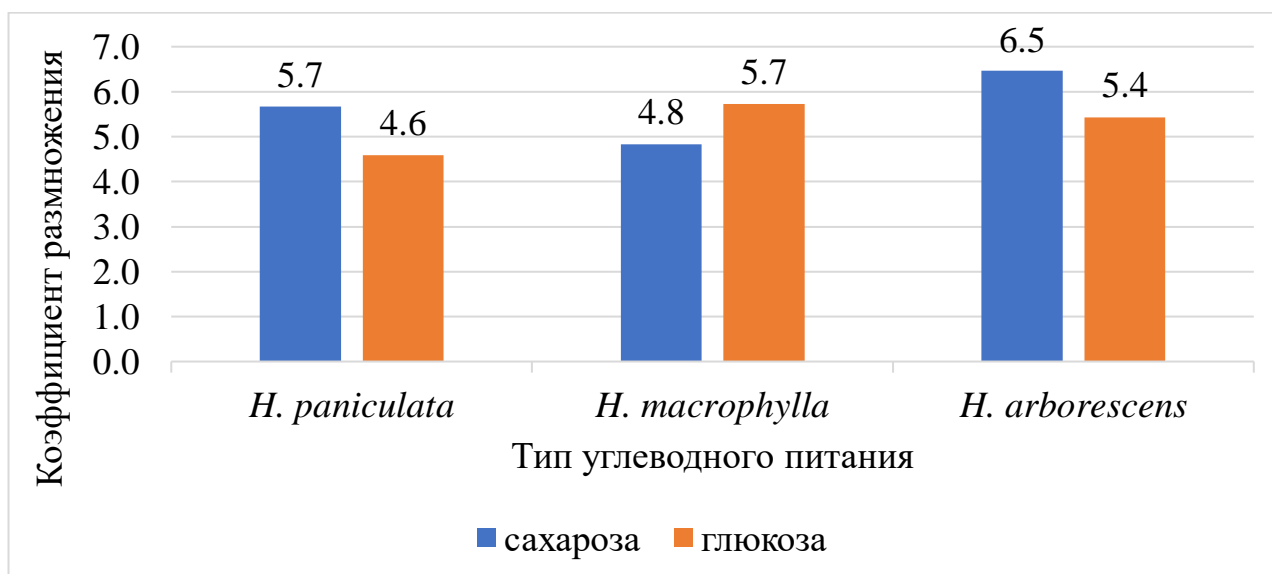


Рисунок 48- Влияние типа углеводного питания на коэффициент размножения различных видов рода *Hydrangea* L. ($HCp_{05} = 0,34$)

Изучали влияние типа углеводного питания на рост и развитие микропобегов гортензии.

У сортов *H. paniculata* 'Wim's Red' и 'Candlelight' наблюдали наименьшую высоту микропобегов при культивировании на питательной среде, содержащей глюкозу ($0,42 \pm 0,02$ и $0,39 \pm 0,02$, соответственно), наибольшую высоту наблюдали при культивировании на питательной среде, содержащей сахарозу ($0,76 \pm 0,05$ и $0,66 \pm 0,04$, соответственно) (рисунок 49). У сорта *H. macrophylla* 'Bodensee' наибольшую высоту микропобегов наблюдали при культивировании на питательной среде с сахарозой ($0,94 \pm 0,04$) у сорта *H. macrophylla* 'Peppermint' наибольшая высота микропобегов составила ($1,1 \pm 0,06$) на питательной среде, содержащей глюкозу (рисунок 50), Побеги сортов *H. arborescens* 'Bella Anna' и 'Annabelle' достигали максимальной высоты на питательной среде с сахарозой ($2,2 \pm 0,02$ и $2,1 \pm 0,03$, соответственно), при культивировании сортов данного вида отмечена наименьшая эффективность добавления глюкозы в питательную среду.



Рисунок 49- Регенеранты *H. paniculata* 'Candlelight' на питательной среде, содержащей сахарозу

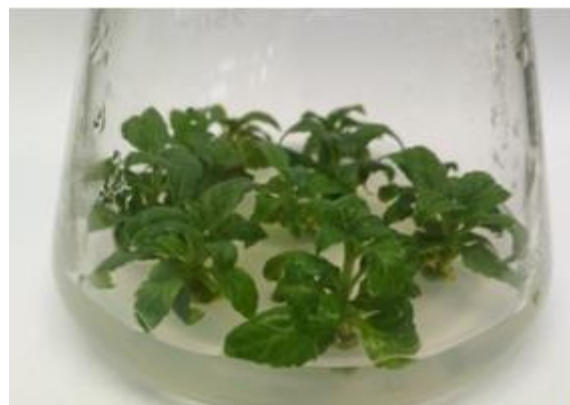


Рисунок 50- Регенеранты *H. macrophylla* 'Peppermint' на питательной среде, содержащей глюкозу

Таким образом, наиболее эффективной при культивировании в условиях *in vitro* сортов *H. paniculata* и *H. arborescens* с применением различных источников углеводного питания оказалась питательная среда MS, содержащая 30 г/л сахарозы и 6-БАП в концентрации 0,5 мг/л. Для представителей *H. macrophylla* наиболее эффективной являлась среда, содержащая 30 г/л глюкозы и 0,5 мг/л 6-БАП (Крахмалева и др., 2019).

3.2.4 Определение условий длительного депонирования представителей рода *Hydrangea* L.

3.2.4.1 Депонирование при низких положительных температурах

Немаловажным в технологии клонального микроразмножения является разработка элементов длительного депонирования при $+15^{\circ}\text{C}$. Нами проведены исследования по изучению влияния типа ретардантов и их концентрации на жизнеспособность регенерантов *Hydrangea* L. при длительном депонировании в условиях $+15^{\circ}\text{C}$.

После первого месяца депонирования при $+15^{\circ}\text{C}$ жизнеспособность эксплантов составила 87 %, после трёх месяцев культивирования выход жизнеспособных эксплантов составил 75 %, на шестой месяц депонирования - 30 % (рисунок 51, 52).

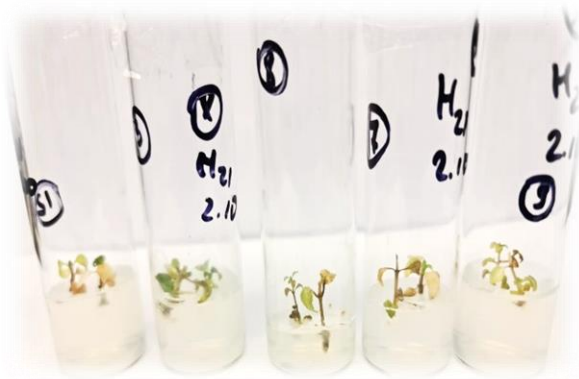


Рисунок 51 - Жизнеспособные регенеранты при длительном депонировании после трех месяцев культивирования при $+15^{\circ}\text{C}$

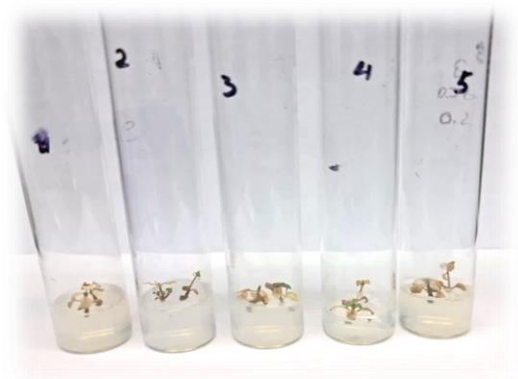


Рисунок 52 - Жизнеспособные регенеранты при длительном депонировании после шести месяцев культивирования при $+15^{\circ}\text{C}$

Добавление в питательную среду ретардантов способствовало замедлению ростовых процессов регенерантов при депонировании в условиях $+15^{\circ}\text{C}$. Наибольший выход жизнеспособных регенерантов через три месяца депонирования наблюдали при добавлении в питательную среду ССС в

концентрации 0,2 мг/л (87 % жизнеспособных регенерантов), наименьший- при добавлении ПБЗ в концентрации 0,2 мг/л (57 % жизнеспособных регенерантов). Наибольший процент жизнеспособных регенерантов через 6 месяцев культивирования наблюдали при применении в составе питательной среды ПБЗ в концентрации 0,4 мг/л (43 % жизнеспособных регенерантов), наименьший - при культивировании на питательной среде без добавления ретардантов (10 % жизнеспособных регенерантов) (рисунок 53).

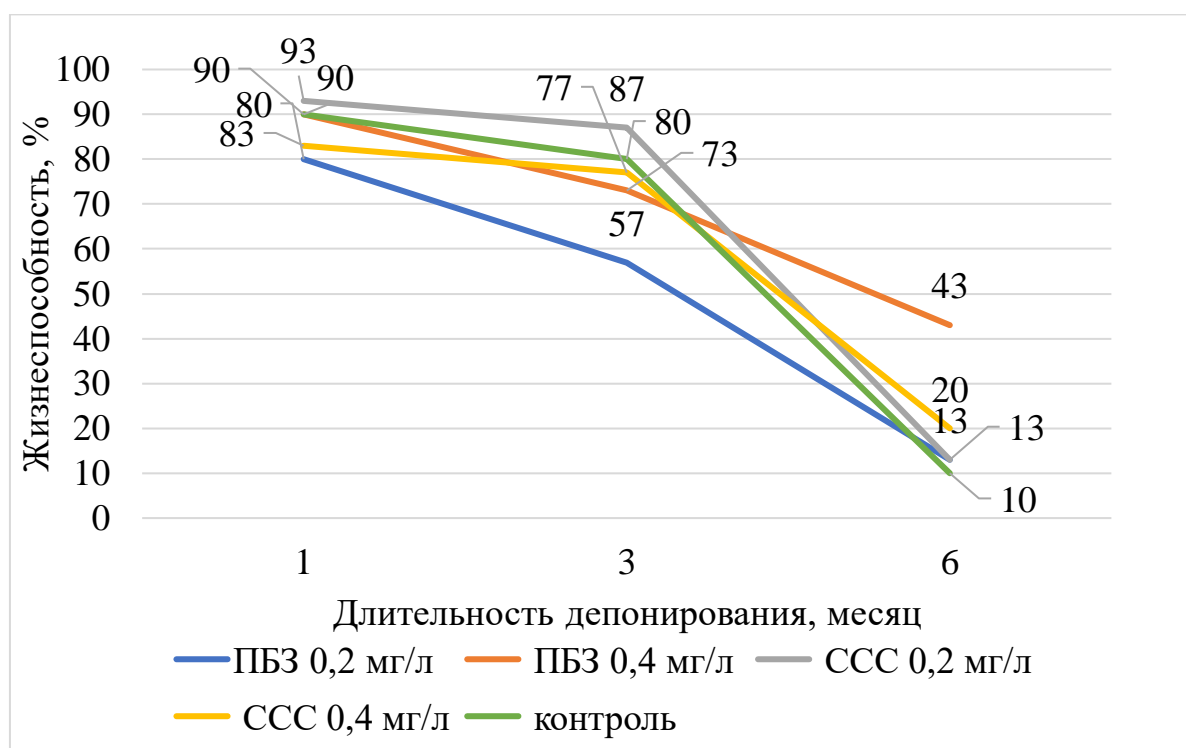


Рисунок 53- Влияние ретардантов на динамику изменения жизнеспособности регенерантов гортензии в процессе депонирования при +15° С, %

Установлено, что при применении ССС и ПБЗ при +15° С выход жизнеспособных регенерантов с третьего по шестой месяц субкультивирования сократился в 4 раза. После шести месяцев культивирования жизнеспособность регенерантов значительно снизилась, поэтому проведение более длительного депонирования гортензии в условиях климатической камеры при температуре +15° С нецелесообразно.

Таким образом, в результате проведенных исследований выявлено, что депонирование гортензии при низких положительных температурах возможно до

шести месяцев. Депонирование в условиях климатической камеры с третьего по шестой месяц сократило долю жизнеспособных регенерантов в 4 раза. Добавление в питательную среду ПБЗ в концентрации 0,4 мг/л способствовало максимальному сохранению жизнеспособности регенерантов после шести месяцев депонирования при +15° С, наименьшую эффективность наблюдали на питательной среде без добавления ретардантов.

3.2.4.2 Депонирование в условиях световой комнаты при +23° С

Изучали влияние типа ретардантов и их концентрации на жизнеспособность и высоту микропобегов регенерантов *Hydrangea L.* при длительном депонировании в условиях световой комнаты (освещение 2000 лк и фотопериод 16/8 ч., температура +23° С). Внешний вид регенерантов гортензии после шести месяцев депонирования при +23° С в зависимости от вида ретарданта и его концентрации можно наблюдать на рисунке 54.

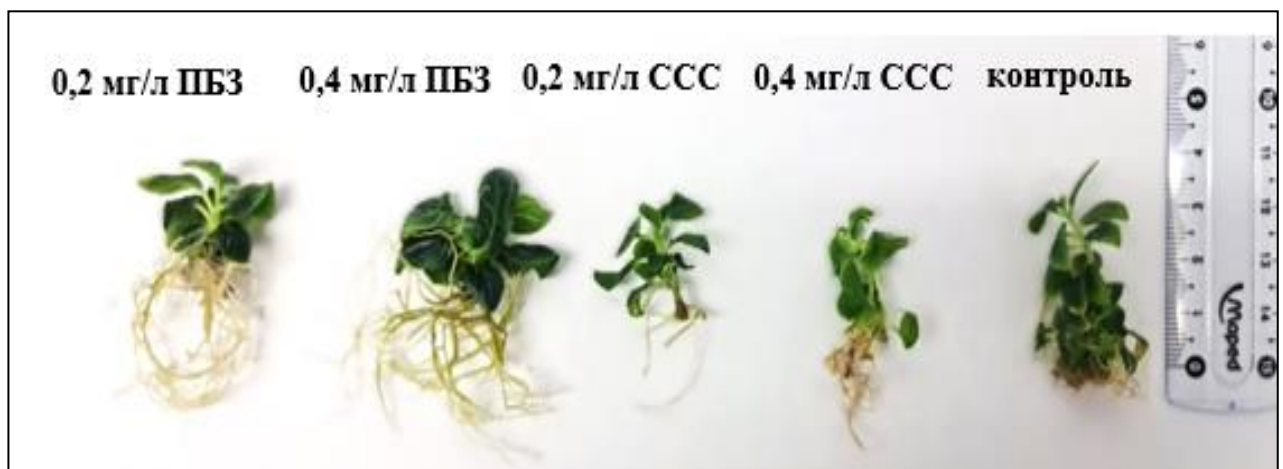


Рисунок 54- Регенеранты после шести месяцев депонирования в условиях световой комнаты при температуре +23° С

Жизнеспособность регенерантов после шести месяцев депонирования в условиях при +23°С сохранялась на уровне 100% во всех вариантах опыта.

Значительная интенсивность роста с третьего по шестой месяц депонирования в условиях +23° С была отмечена при применении ПБЗ в концентрации 0,4 мг/л (прирост составил 180 % относительно величины прироста после трех месяцев депонирования) (таблица 5).

Таблица 5 – Влияние ретардантов на высоту микропобегов гортензии при длительном депонировании в условиях +23° С, см

Ретардант	Высота регенерантов, см		
Концентрация ретарданта, мг/л	3 месяца депонирования	6 месяцев депонирования	Прирост, %
ПБЗ 0, 2	0,60± 0,09*	1,14± 0,15	90
ПБЗ 0, 4	0,50± 0,08	1,40± 0,25	180
ССС 0, 2	0,87± 0,09	1,26± 0,15	45
ССС 0, 4	1,03± 0,12	1,81± 0,19	76
контроль	0,65± 0,06	1,09± 0,10	67

* результаты выражены как среднее значение ± среднеквадратическое отклонение

Наибольшее ингибирующее действие на высоту микропобегов регенерантов (в период с третьего по шестой месяц) оказала питательная среда с добавлением ССС в концентрации 0,2 мг/л.

Таким образом, культивирование при +23° С с применением ретардантов способствовало сохранению 100 % регенерантов на протяжении шести месяцев. Наибольший ингибирующий эффект от применения ретардантов был получен при культивировании на питательной среде с добавлением ССС в концентрации 0,2 мг/л, наименьший- при добавлении в питательную среду ПБЗ в концентрации 0,4 мг/л.

3.3 Изучение влияния типа и концентрации ауксинов в составе питательной среды на этапе ризогенеза представителей рода *Hydrangea* L.

Нами были проведены исследования по изучению особенностей влияния ИУК и ИМК на ризогенез *in vitro* микропобегов представителей рода *Hydrangea* L. Выявлено, что сорта *H. macrophylla* и *H. arborescens* проявляют высокую способность к спонтанному ризогенезу, что наблюдалось уже через 2 недели после начала культивирования растений на безгормональной питательной среде (рисунок 55, 56).



Рисунок 55- Спонтанный ризогенез сорта *N. macrophylla* 'Forever & Ever Blue' на безгормональной питательной среде



Рисунок 56- Спонтанный ризогенез сорта *N. arborescens* 'Bella Anna' на безгормональной питательной среде

В результате исследований было выявлено, что для сортов *N. paniculata* оптимальной для укоренения является питательная среда, содержащая ИМК в концентрации 2 мг/л (72% укорененных микрочеренков), наименьший процент укорененных микрочеренков *N. paniculata* наблюдали на безгормональной питательной среде и при применении ИУК и ИМК в концентрациях 0,5 мг/л (по 44% укорененных микрочеренков) (рисунок 57). Высокий процент укорененных растений наблюдали при культивировании *N. macrophylla* на питательной среде, дополненной ИУК и ИМК в концентрациях 2 мг/л каждый (процент укорененных растений составила 90% и 87%, соответственно) (рисунок 58).



Рисунок 57- Регенеранты *N. paniculata* 'Magical Candle' на питательных средах, содержащих ИУК в концентрации 0,5 мг/л (слева) и 2 мг/л (справа)

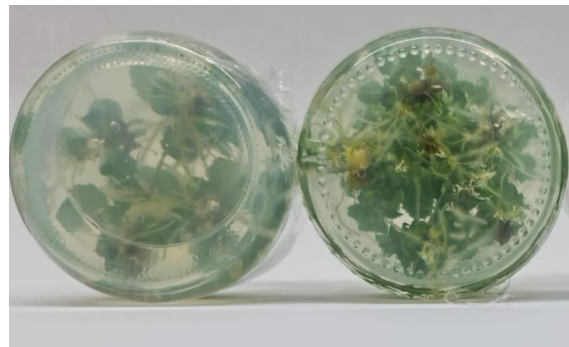


Рисунок 58- Регенеранты *N. macrophylla* 'Peppermint' на питательных средах без содержания гормона (слева) и содержащей ИМК в концентрации 2 мг/л (справа)

Высокий выход укорененных растений *H. arborescens* наблюдали при добавлении в питательную среду ИМК в концентрации 2 мг/л и ИУК в концентрации 1 мг/л (рисунок 59).

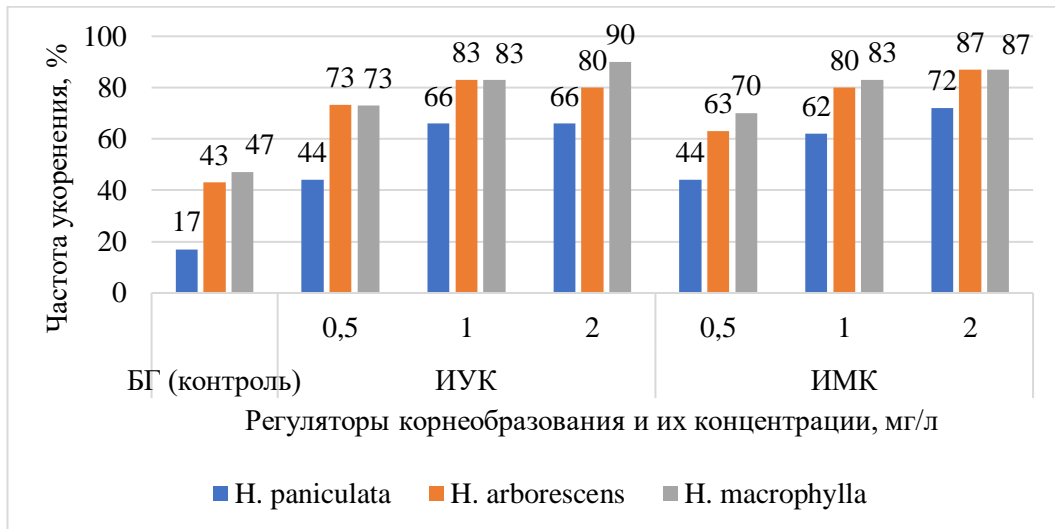


Рисунок 59 – Влияние различных концентраций ИУК и ИМК на укореняемость различных видов гортензии, %

Среди исследуемых видов наибольшей корнеобразовательной способностью отличались *H. macrophylla* (76 % укорененных микрочеренков) и *H. arborescens* (73% укорененных микрочеренков), наименьшей - *H. paniculata* (53%).

Среди всех исследуемых сортов наибольшей корнеобразовательной способностью характеризовались сорта: *H. arborescens*: 'Annabelle' (90% укорененных микрочеренков), 'Bella Anna' (80%), 'Sterilis' (80%); сорта *H. macrophylla*: 'Forever & Ever Blue' (90 %), 'Peppermint' (90%); сорта *H. paniculata*: 'Magical Candle' (70%), 'Wim's Red' (70%).

Таким образом, для сортов *H. paniculata*, *H. arborescens*, *H. macrophylla* наиболее эффективными при культивировании в условиях *in vitro* на стадии ризогенеза являются гормоны ИУК и ИМК в концентрациях 1 и 2 мг/л. Наблюдали тенденцию к увеличению корнеобразовательной способности с увеличением концентрации ауксинов. Наибольшей корнеобразовательной способностью среди изучаемых объектов характеризовались сорта *H. macrophylla* и *H. arborescens*, наименьшей- *H. paniculata*.

3.4 Совершенствование элементов технологии клонального микроразмножения растений рода *Hydrangea* L. на этапе адаптации к условиям *ex vitro*

3.4.1 Подбор оптимального состава субстрата для адаптации микрорастений к нестерильным условиям

Состав субстрата имеет важное значение на этапе адаптации микрорастений к нестерильным условиям. Изучено влияние состава почвенного субстрата на адаптационную способность представителей рода *Hydrangea* L. Установлены результаты применения различных почвосмесей на приживаемость и жизнеспособность микрочеренков и их морфометрические показатели через месяц адаптации в условиях фитотрона (таблица 6).

Таблица 6- Морфометрические показатели растений гортензии при адаптации в условиях фитотрона в зависимости от состава субстрата, вида и сорта гортензии в условиях фитотрона

Вид	Сорт	Вариант почвосмеси	Число образовавшихся листьев, шт.	Длина корней, см	Высота растений, см
<i>H. paniculata</i>	'Candlelight'	T _B *:П** - 1:1	13,4±0,5	4,6±0,4	4,6±0,4
		T _B	11,9±0,7	4,8±0,4	4,2±0,4
	'Wim's Red'	T _B *:П** - 1:1	11,5±0,6	4,5±0,4	3,8±0,4
		T _B	11,2±0,7	4,1±0,3	3,1±0,3
<i>H. arborescens</i>	'Sterilis'	T _B *:П** - 1:1	7,0±0,5	4,7±0,2	5,3±0,2
		T _B	6,8±0,6	4,3±0,1	4,9±0,2
	'Bella Anna'	T _B *:П** - 1:1	4,5±0,3	4,4±0,2	5,0±0,3
		T _B	6,8±0,6	3,6±0,3	3,9±0,3
<i>H. macrophylla</i>	'Forever & Ever Blue'	T _B *:П** - 1:1	11,8±0,5	3,9±0,2	4,4±0,3
		T _B	12,5±0,5	3,3±0,2	4,3±0,2
	'Bodensee'	T _B *:П** - 1:1	14,3±0,6	4,4±0,2	5,7±0,2
		T _B	14,0±0,6	4,2±0,4	4,9±0,3

T_B* – торф верховой, П** - перлит

При изучении особенностей адаптации гортензии к условиям *ex vitro* с применением различных почвосмесей выявлено, что на длину корней, высоту растений, число образовавшихся листьев существенное влияние оказывает содержание агроперлита в почвосмеси для всех исследуемых сортов. Для

представителей вида *H. paniculata* длина корней при адаптации в почвосмеси с агроперлитом составила 4,55 см, в почвосмеси без содержания агроперлита - 4,45 см. Для сортов вида *H. arborescens* в данном варианте опыта длина корней была также максимальна - 4,55 см. При изучении сортов *H. macrophylla* в вариантах без агроперлита в составе почвосмеси показатели были значительно ниже, чем при применении агроперлита - 3,85 и 4,15, соответственно. При измерении высоты растений получили следующие результаты: все сорта исследуемых видов имели тенденцию к увеличению показателей при выращивании регенерантов в почвосмеси, содержащей агроперлит. Добавление в почвосмесь агроперлита также положительно влияло на образование новых листьев, все исследуемые сорта имели тенденцию к увеличению образования новых листьев, исключение составили сорта *H. macrophylla* 'Forever & Ever Blue' и *H. arborescens* 'Bella Anna', что подтверждает сортоспецифичность отмеченных сортов.

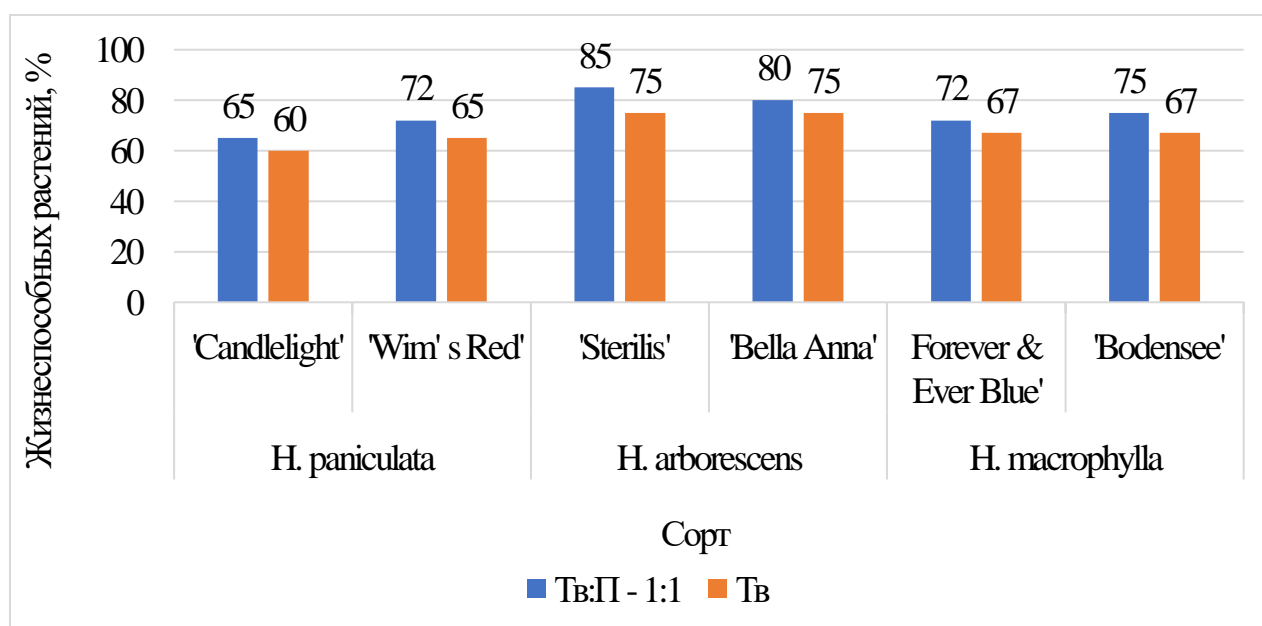


Рисунок 60- Жизнеспособность растений- регенерантов на этапе адаптации при применении различных вариантов почвосмеси, %

Наибольшей жизнеспособностью при адаптации микрочеренков в субстрате, содержащем верховой торф и перлит, обладали сорта: *H. arborescens* 'Sterilis' (85%), *H. arborescens* 'Bella Anna' (80%), *H. macrophylla* 'Bodensee' (75%), *H. paniculata* 'Wim' s Red' (72%), *H. macrophylla* 'Forever & Ever Blue' (72%) (рисунок 60). В

результате проведенных исследований установлено, что добавление агроперлита в грунт для адаптации регенерантов к нестерильным условиям благоприятно влияет на рост и развитие исследуемых сортов гортензии. При адаптации в условиях фитотрона наибольший процент прижившихся растений на всех вариантах опыта отмечен у сортов *H. arborescens* (79%), наименьший у сортов *H. paniculata* (65%). Выход жизнеспособных растений *H. macrophylla* составил 70%.

3.4.2 Подбор субстрата для адаптации растений гортензии с использованием гидропонной установки

При адаптации регенерантов в условиях защищенного грунта существует ряд трудностей, которые могут в последующем привести к гибели растений. Трудности эти связаны с анатомическими и физиологическими особенностями растений-регенерантов, выращенных в условиях *in vitro*. Альтернативный подход к этапу адаптации растений-регенерантов к условиям *ex vitro* связан с применением гидропонных установок (Вечернина и др., 2008).

Изучали возможность применения различных субстратов для адаптации растений гортензии в условиях гидропоники. Приживаемость растений-регенерантов через 30 дней после высадки на этап адаптации в гидропонную установку отражены на рисунке 61.

Приживаемость растений-регенерантов через 30 дней после высадки в условия *ex vitro* составила 93% при применении в качестве субстрата агроперлита. Наименьший выход жизнеспособных эксплантов был получен при применении минеральной ваты - 67%. При применении кокосового субстрата жизнеспособность адаптированных растений составила 73%. Приживаемость с показателем 100% была отмечена при применении следующих субстратов у сортов *H. paniculata* 'Magical Starlight' – агроперлит, *H. arborescens* 'Bella Anna'- кокосовый субстрат, *H. arborescens* 'Annabelle'- на всех вариантах опыта, *H. macrophylla* 'Magical Crystal' при выращивании в агроперлите. Отмечено, что у исследуемых сортов *H.*

arborescens доля жизнеспособных растений была максимальна независимо от выбора субстрата.

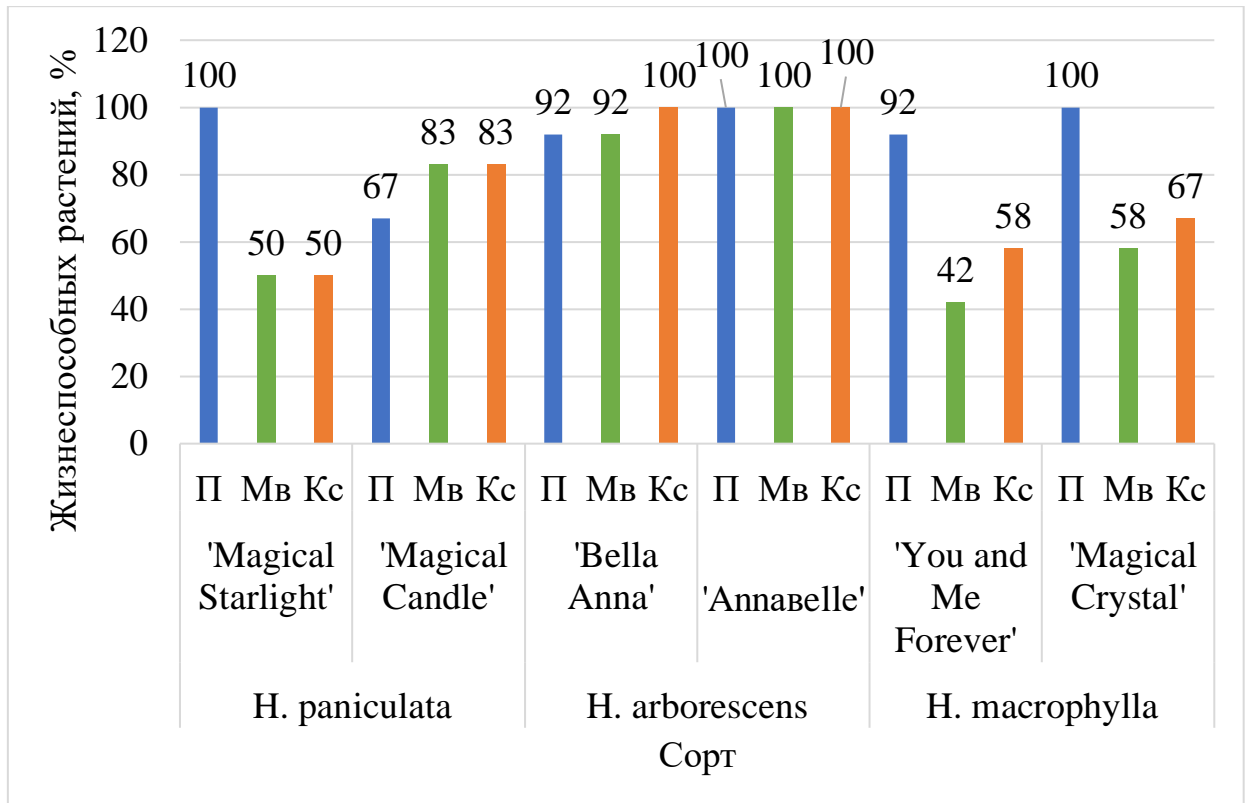


Рисунок 61- Приживаемость растений- регенерантов сортов гортензии через 30 дней адаптации в гидропонной установке, %

При изучении адаптационной особенности представителей рода *Hydrangea* L. в условиях гидропоники каждые 15 дней фиксировали высоту растений, число новых листьев (таблица 7).

Средняя высота растений-регенерантов на 15-й день культивирования варьировала от $0,50 \pm 0,08$ до $2,45 \pm 0,29$ см. Наибольшая высота растений была отмечена у сортов *H. arborescens* ($2,45 \pm 0,29$ и $2,07 \pm 0,23$), наименьшая у сортов вида *H. macrophylla* ($0,50 \pm 0,08$ и $0,87 \pm 0,21$), что коррелирует с биологическими особенностями исследуемых растений при выращивании их в открытом грунте. Наибольшее количество растений с полным разрастанием корневой системы через 15 дней адаптации зафиксировано при применении в качестве питательного субстрата агроперлита и кокосового субстрата. При выращивании в минеральной

вате корневая система растений развивалась медленно: на 15 день культивирования разрастание корневой системы не было отмечено.

Таблица 7- Влияние вида субстрата на морфометрические показатели растений-регенерантов гортензии при адаптации в условиях гидропоники на 15-й день культивирования в зависимости от вида и сорта

Вид	Сорт	Субстрат	Высота растений, см	Число новых листьев, шт.
<i>H. paniculata</i>	'Magical Starlight'	П*	1,10±0,20	3,80±0,4
		Мв**	0,50±0,03	0,50±0,03
		Кс***	1,00±0,40	1,00±0,05
	'Magical Candle'	П	1,72±0,48	6,20±1,47
		Мв	0,75±0,15	2,57±0,38
		Кс	1,50±0,22	2,83±0,51
<i>H. arborescens</i>	'Bella Anna'	П	1,06±0,17	6,28±0,67
		Мв	1,32±0,21	2,93±0,43
		Кс	0,80±0,07	3,69±0,45
	'Annabelle'	П	2,45±0,29	80±0,88
		Мв	0,99±0,17	5,13±0,68
		Кс	2,07±0,23	8,27±0,43
<i>H. macrophylla</i>	'You and Me Forever'	П	0,84±0,12	3,42±0,60
		Мв	0,50±0,08	2,67±0,47
		Кс	0,85±0,11	6,33±1,58
	'Magical Crystal'	П	1,28±0,17	7,00±1,55
		Мв	0,87±0,21	5,75±1,71
		Кс	1,27±0,17	5,25±0,70

П*- агроверлит, Мв**- минеральная вата, Кс- кокосовый субстрат

Измеряли морфометрические показатели через 30 дней культивирования в условиях гидропоники (таблица 8).

Таблица 8 - Влияние вида субстрата на морфометрические показатели растений-регенерантов гортензии при адаптации в условиях гидропоники на 30-й день культивирования в зависимости от вида и сорта гортензии

Вид	Сорт	Субстрат	Высота растений, см	Длина корней, см
<i>H. paniculata</i>	'Magical Starlight'	П*	7,39±0,52	9,3±0,31
		Мв**	1,22±0,42	2,11±0,13
		Кс***	1,55±0,58	5,2±0,22
	'Magica Candle'	П	5,74±0,7	6,4±0,2
		Мв	3,32±0,21	5,34±0,30
		Кс	4,89±0,34	7,8±0,23
<i>H. arborescens</i>	'Bella Anna'	П	6,47±0,59	4,75±0,36
		Мв	7,65±0,55	2,05±0,31
		Кс	4,17±0,82	8,56±0,76
	'Annabelle'	П	14,6±0,83	6,05±0,69
		Мв	7,98±0,79	4,6±0,15
		Кс	10,78±0,93	3,6±0,17
<i>H. macrophylla</i>	'You and Me Forever'	П	3,54±0,42	2,77±0,15
		Мв	1,8±0,13	0,9±0,07
		Кс	2,4±0,27	2,4±0,19
	'Magical Crystal'	П	3,81±0,25	6,57±0,21
		Мв	2,57±0,79	2,42±0,21
		Кс	1,11±0,25	4,3±0,16

П*- агроперлит, Мв**- минеральная вата, Кс- кокосовый субстрат

Применение кокосового субстрата наиболее благоприятно сказалось на росте и развитии сорта *H. paniculata* 'Magical Candle' (высота растений 4,89±0,34 и длина корней 7,8±0,23). Адаптация сорта *H. arborescens* 'Bella Anna' на минеральной вате оказала положительное влияние на развитие надземной части растений по сравнению с другими вариантами опыта: высота растений составила 7,65±0,55 см (рисунок 62, 63).



Рисунок 62 – Растения-регенеранты *H. arborescens* 'Bella Anna', культивируемые в различных субстратах с использованием гидропонной установки через 15 дней адаптации

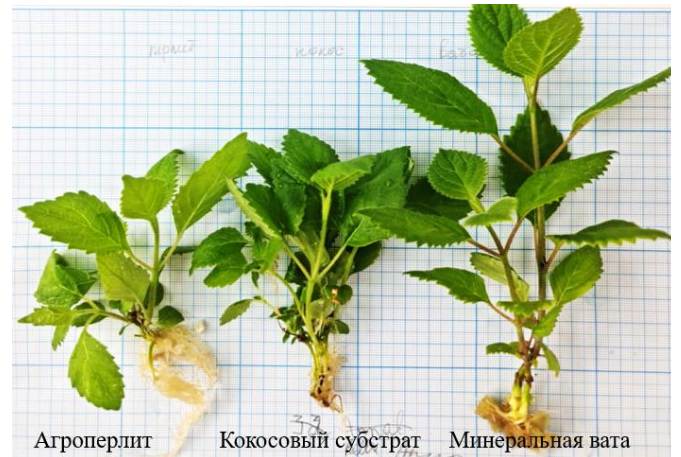


Рисунок 63 – Растения-регенеранты *H. arborescens* 'Bella Anna', культивируемые в различных субстратах с использованием гидропонной установки через 30 дней адаптации

Среди всех исследуемых субстратов наиболее эффективным для развития корневой системы оказался агроперлит (средняя длина корней составила 5,9 см), наименее благоприятным оказался кокосовый субстрат (средняя длина корней- 5,4 см), средняя длина корней при использовании в качестве субстрата минеральной ваты составила 2,9 см.

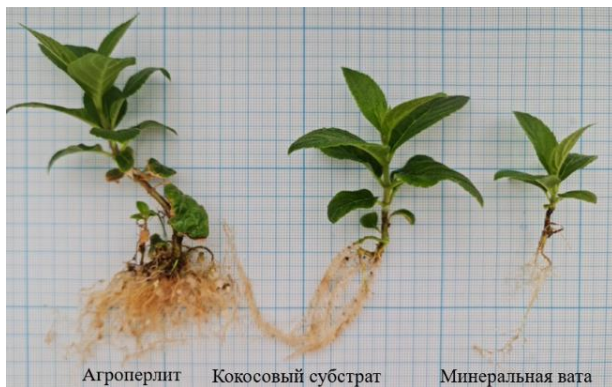


Рисунок 64- Растения *H. paniculata* 'Magical Starlight', культивируемые в различных субстратах с использованием гидропонной установки



Рисунок 65- Растения *H. macrophylla* 'Magical Crystal', культивируемые в различных субстратах с использованием гидропонной установки

Выявлены сорта, для которых агроперлит является наиболее эффективным субстратом для адаптации в гидропонной установке: *H. paniculata* 'Magical Starlight'

(рисунок 64), *H. arborescens* 'Annabelle', *H. macrophylla* 'You and Me Forever' и *H. macrophylla* 'Magical Crystal' (рисунок 65). При выращивании *H. macrophylla* 'Magical Crystal' и *H. arborescens* 'Bella Anna' в кокосовом субстрате, а *H. macrophylla* 'Magical Crystal' и *H. arborescens* 'Bella Anna' - в минеральной вате отмечено многочисленное адвентивное побегообразование у основания главного побега. Таким образом, в результате изучения адаптационной способности растений гортензии при культивировании в условиях гидропоники было выявлено, что наиболее эффективным субстратом является агроперлит фракции 1,25 мм. Использование гидропонной установки при адаптации растений-регенерантов к нестерильным условиям дает возможность получения посадочного материала гортензии с развитой надземной частью и корневой системой за более короткий срок, чем при адаптации в условиях фитотрона.

3.5 Изучение действия досветки узкоспектральным светом на растения - регенеранты представителей рода *Hydrangea* L.

3.5.1 Влияние досветки на биохимические и морфометрические показатели листьев растений-регенерантов

Спектральный состав света является важным фактором, оказывающим влияние на морфометрические показатели и биохимический состав листьев регенерантов и, соответственно, их адаптационную способность. В результате исследований по изучению влияния спектрального состава света на морфометрические показатели листьев гортензии были получены следующие результаты: при досветке фитолампами «White full» (контроль+белый свет) уменьшалось число устьиц, досветка красным и синим спектрами света способствовала увеличению числа устьиц по сравнению с контролем на 23% (рисунок 66, 67, 68) (Воронкова и др., 2022).

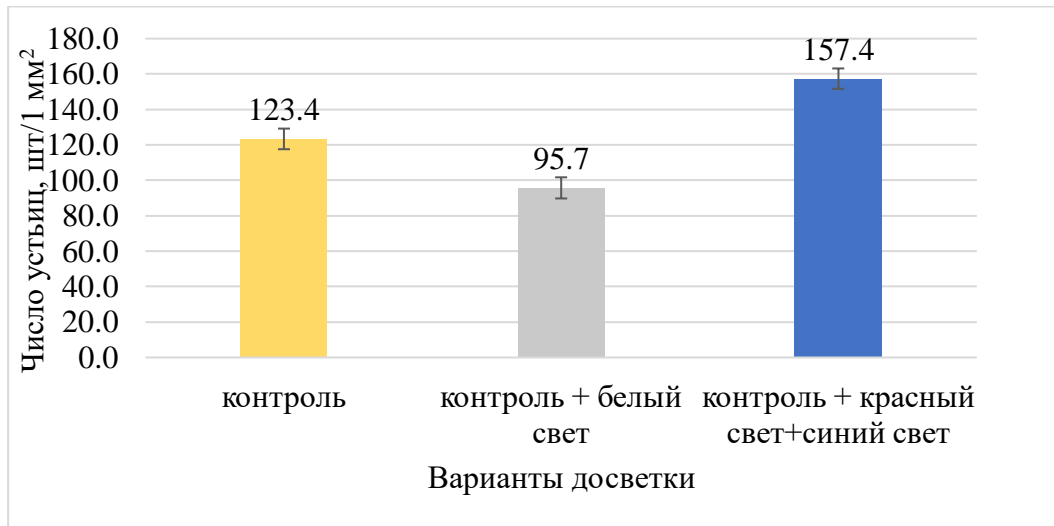


Рисунок 66- Влияние различных вариантов досветки на число устьиц в растений- регенерантов, шт/ мм²

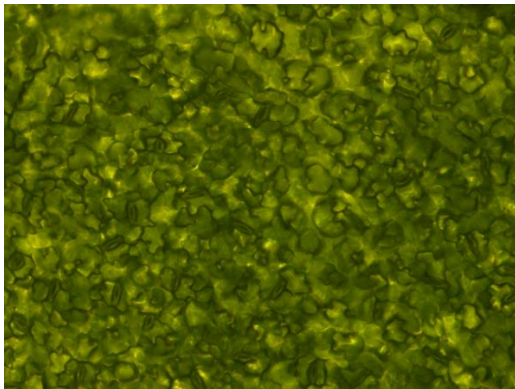


Рисунок 67- лист *N. macrophylla* 'Bodensee' под микроскопом СХ-43 (x20 увеличение) после досветки лампами ЛЛ-26/ 36 Вт G13 6500К IEK (контроль)

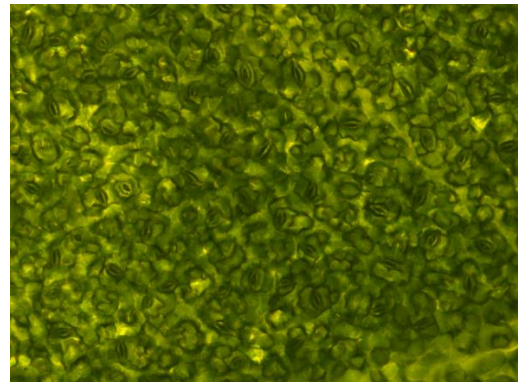


Рисунок 68- лист *N. macrophylla* 'Bodensee' под микроскопом СХ-43 (x20 увеличение) после досветки светодиодными панелями «АгроLux» (красный+синий)

Досветка красным и синим светом способствовала увеличению толщины листа и толщины эпидермиса, что является потенциальным свидетельством повышения интенсивности поглощения углекислого газа, соответственно, интенсивности фотосинтеза (рисунок 69).

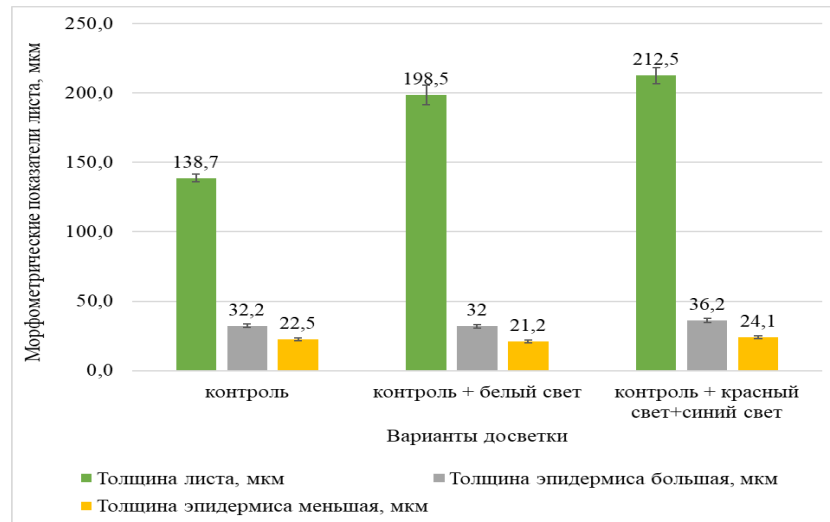


Рисунок 69– Морфометрические показатели листьев гортензии при различных вариантах досветки

Создание предпосылок для увеличения интенсивности фотосинтеза также подтверждается увеличением количества фотосинтетических пигментов - хлорофиллов и каротиноидов в обоих вариантах досветки по сравнению с контролем (таблица 9).

Таблица 9 - Влияние различных вариантов досветки на содержание и состав фотосинтетических пигментов листьев *H. macrophylla* 'Bodensee', мг/г сырого веса* (P < 0, 05)

Этапы опыта	Варианты опыта	Сумма хлорофиллов	Каротиноиды	% после охлаждения	
				Хлорофиллы	Каротиноиды
До охлаждения	Контроль	0,648	0,073	-	-
	Контроль+ белый свет	0,252	0,042	-	-
	Контроль+ красный свет+синий свет	0,358	0,045	-	-
После охлаждения	Контроль	0,572	0,075	88	104
	Контроль+ белый свет	0,325	0,045	129	106
	Контроль+ красный свет+синий свет	0,405	0,062	113	138
исходный		0,489	0,101	-	-

Полученные данные согласуются с результатами исследований, полученных на других растениях (Wellbur, 1994). Так, в недавних исследованиях показаны изменения габитуса и морфологических показателей томата при фоновом естественном освещении в сочетании с различными комбинациями монохроматической досветки (Dieleman, 2021).

Особое внимание было уделено изменению уровня фенольных соединений, в частности фенолкарбоновых кислот (ФКК) и абсцизовой кислоты (АБК) в тканях эксплантов.

Суточный стресс-тест на устойчивость к охлаждению выявил снижение на ~30% количества флавоноидов в листьях растений по сравнению с контролем, это свидетельствует о включении защитной реакции регенерантов (таблица 10). Снижение количества хлорофиллов в контроле и увеличение в обоих вариантах досветки также является результатом реализации защитных механизмов действия флавоноидов. Сумма каротиноидов, являющихся предшественниками биосинтеза многих стресс-адаптивных компонентов жизнедеятельности растения, увеличилась в варианте досветки красным и синим светом почти на 40% по сравнению с контролем и досветкой полным белым светом (Воронкова и др., 2022).

Таблица 10 - Влияние различных вариантов досветки на содержание флавоноидов в листьях *H. macrophylla* 'Bodensee'

Этапы опыта	Вариант опыта	Сумма флавоноидов, мг/г сырого веса	% после охлаждения
До охлаждения	Контроль	3,15 ± 0,14	-
	Контроль + белый свет	4,18 ± 0,12	-
	Контроль+ красный свет + синий свет	4,35 ± 0,11	-
После охлаждения	Контроль	3,0 ± 0,12	95
	Контроль + белый свет	2,75 ± 0,09	66
	Контроль+ красный свет+ синий свет	2,96 ± 0,08	68
исходный		4,74 ± 0,20	-

* результаты выражены как среднее значение ± среднеквадратическое отклонение

Хлорогеновая (ХК) и кофейная (КК) кислоты также связаны с антиоксидантной защитой клеток растений при стрессовых воздействиях, способствуя сохранению целостности мембраны и регуляции водного потенциала клеток и трансмембранного потока воды.

После окончания досветки в тканях регенерантов отмечено снижение уровня хлорогеновой кислоты, но при этом в вариантах с досветкой идентифицировано наличие кофейной кислоты, которая наиболее активна при реализации протекторных программ. В связи с этим более корректно оценивать резистентность растений после досветки по соотношению КК/ХК. При досветке белым светом этот параметр равен 0,36, а в варианте с красным и синим светом -0,47. В контрольных растениях отмечены незначительные следы КК (таблица 11). После суточного охлаждения уровень хлорогеновой кислоты резко возрастает, во всех вариантах опыта, но в варианте красный свет + синий свет показатели снижаются в 1,5 - 2 раза по сравнению с контролем и при досветке белым светом, что косвенно указывает на включение адаптационных программ для сохранения гомеостаза клеток при холодовом стрессе. Это предположение подтверждает и динамика изменения в содержании феруловой кислоты, являющейся предшественником ряда антистрессоров, в частности флавоноидов. Ее уровень при досветке красным светом + белым светом снижается от исходного 2,85 мкг/кг до следового количества (Воронкова и др., 2022).

Таблица 11 - Влияние различных вариантов досветки на содержание фенолкарбоновых кислот в тканях регенерантов *H. macrophylla* 'Bodensee', мкг/г сырого вещества ($P < 0,05$)

Вариант опыта	ФКК	До начала досветки	После окончания досветки	После охлаждения
Контроль	Хлорогеновая	146,7 ± 24,5	52,84 ± 12,93	541,7 ± 38,77
	Кофейная	-	следы	-
	Феруловая	2,85 ± 0,22	1,0 ± 0,2	2,73 ± 0,59
Контроль+ белый свет	Хлорогеновая	146,7 ± 24,5	45,28 ± 8,35	729,9 ± 38,85
	Кофейная	-	16,42 ± 4,11	-
	Феруловая	2,85 ± 0,22	3,03 ± 0,68	3,81 ± 0,91
Контроль+ красный свет+синий свет	Хлорогеновая	146,7 ± 24,5	38,41 ± 9,37	430 ± 18,6
	Кофейная	-	18,17 ± 4,63	-
	Феруловая	2,85 ± 0,22	1,24 ± 0,11	следы

* результаты выражены как среднее значение ± среднеквадратическое отклонение

Существует предположение, что протекторные механизмы начинают работать уже на этапе досветки, которая может восприниматься растением как падающий стрессовый фактор. На это указывает и появление в клетках кофейной кислоты, и динамика содержания АБК в тканях растений. После окончания досветки уровень АБК возрастает во всех вариантах и максимален (более чем в 40 раз) в варианте досветки красным светом + белым светом (таблица 12).

Таблица 12- Содержание АБК в тканях регенерантов *H. macrophylla* 'Bodensee' в зависимости от вариантов досветки, мкг/г сырого вещества ($P < 0,05$)

Вариант опыта	До начала досветки	После окончания досветки	После охлаждения
Контроль	1,37 ± 0,66	49,47 ± 4,08	7,97 ± 0,17
Контроль + белый свет	1,37 ± 0,66	45,5 ± 4,7	8,09 ± 0,64
Контроль+ красный свет+синий свет	1,37 ± 0,66	56 ± 1,78	4,81 ± 0,9

* результаты выражены как среднее значение ± среднеквадратическое отклонение

После охлаждения содержание АБК снижается, благодаря ее триггерной функции и наибольшее снижение (более чем в 11 раз) отмечено в варианте досветки красным светом + белым светом. В контроле наблюдается снижение в 6 раз, т.е. адаптационная система работает и в контроле, но метаболические процессы перестройки обмена веществ протекают медленнее. Аналогичная картина отмечается в варианте досветки белым светом (Воронкова и др., 2022).

Таким образом, в результате исследований было выявлено, что досветка красным и синим светом показала положительные результаты в процессе развития растений и адаптации к воздействию низких положительных температур, что является существенным показателем для данной культуры.

3.5.2 Последствие досветки на зимостойкость гортензии крупнолистной в условиях открытого грунта

Анализируя особенности климатических условий по данным Метеорологической обсерватории МГУ, можно сделать вывод, что зима 2023-2024 года в Москве оказалась на один градус холоднее обычного. Средняя температура воздуха зимних месяцев держалась на уровне $-6,4\text{ }^{\circ}\text{C}$. Среднемесячная температура в январе держалась на уровне $-9,9\text{ }^{\circ}\text{C}$ (современная норма для января: $-6,2\text{ }^{\circ}\text{C}$). Максимальная минусовая температура за весь зимний сезон зафиксирована 4-го января ($-24,9\text{ }^{\circ}\text{C}$).

Особенностью зимы 2023-2024 года явилось очень большое количество выпавших осадков- 217 мм. Зимой 2023-2024 года зафиксирована аномально большая высота снежного покрова. Наибольший отсчёт высоты снежного покрова прошедшей зимой достиг 70 см и был отмечен 19 февраля.

Проведены исследования по оценке зимостойкости растений *H. macrophylla* 'Bodensee' после досветки различными спектрами света и кратковременного охлаждения на стадии ризогенеза в условиях *in vitro*. Оценивали жизнеспособность побегов после зимы 2023-2024 гг. (таблица 13).

Таблица 13- Последствие досветки растений-регенерантов различными спектрами света на перезимовку *H. macrophylla* 'Bodensee' в зависимости от укрытия лутрасилом

Вариант опыта	Количество вегетативных почек, шт.		Количество генеративных почек, шт.	
	С укрытием	Без укрытия	С укрытием	Без укрытия
Контроль	13,90±1,2	6,47±0,36	3,80±0,20	1,80±0,10
Контроль+белый свет	11,20±0,63	6,33±0,54	4,00±0,29	1,73±0,30
Контроль+красный свет+синий свет	15,93±0,89	10,51±0,40	6,93±0,33	4,87±0,32

* результаты выражены как среднее значение ± среднеквадратическое отклонение

Состояние почек гортензии крупнолистной после зимовки - один из важнейших факторов и показателей цветения. Цветочные почки у сортов *H. macrophylla* формируются осенью и зимой на побегах в состоянии органического покоя. При сравнении количества пробудившихся вегетативных и генеративных почек *H. macrophylla* было выявлено, что при укрытии лутрасилом почки растений меньше повреждались морозами. Наибольшее количество вегетативных почек без укрытия гортензий на зиму наблюдали при варианте досветки микропобегов красным и синим светом (10,51±0,40). Подобные результаты были получены без укрытия растений на зиму при подсчете генеративных почек: значительные положительные изменения также наблюдали на растениях, выращенных при досветке, сочетающей красный и синий спектры света. Количество генеративных почек при досветке растений красным и синим светом в 2,7 раз превышало показателей при выращивании растений-регенерантов в контрольном варианте опыта.

При сравнении количества жизнеспособных побегов было выявлено, что наличие укрытия также способствовало сохранению побегов *H. macrophylla* 'Bodensee' (рисунок 70).

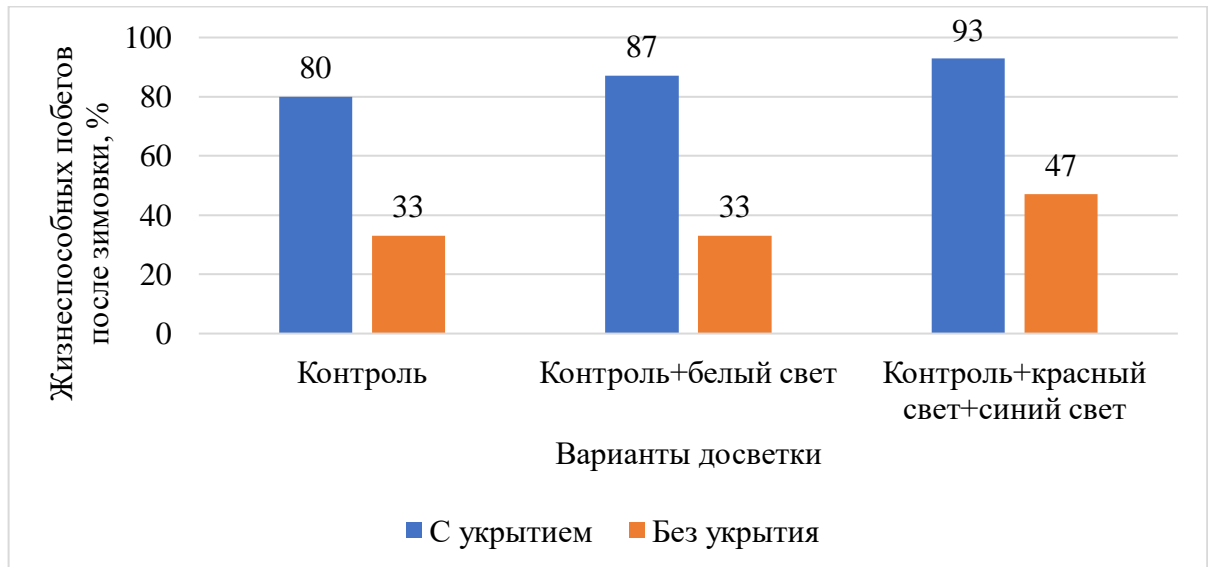


Рисунок 70- Последствие досветки растений-регенерантов различными спектрами света на жизнеспособность побегов *H. macrophylla* 'Bodensee' в зависимости от укрытия лутрасилом

Таким образом, при проведении сравнительного анализа состояния *H. macrophylla* 'Bodensee' после зимовки в условиях средней полосы России было выявлено, что для сохранения жизнеспособности и защиты от неблагоприятных факторов растений гортензии крупнолистной следует применять укрытие. Наиболее надежным и проверенным укрытием на зиму *H. macrophylla* является лутрасил, при котором происходило увеличение всех изучаемых показателей: процент перезимовавших побегов (87%), количество вегетативных и генеративных почек. Наиболее устойчивыми к зимовке без укрытия оказались растения, досвеченные красным и синим светом. Полученные данные могут найти применение в качестве рекомендации для увеличения формирования цветочных почек сортов гортензии крупнолистной и, как следствие, ее декоративного потенциала.

ГЛАВА 4. ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ АДАПТАЦИИ ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *HYDRANGEA* L. В УСЛОВИЯХ ГИДРОПОННОЙ УСТАНОВКИ

Оценка экономической эффективности направлена на определение целесообразности использования способа клонального микроразмножения гортензии, как одного из основных способов вегетативного размножения культуры, позволяющего получить большое количество оздоровленного посадочного материала в короткие сроки.

В результате исследований установлено, что адаптация в условиях гидропонной установки способствует увеличению высоты растений- регенерантов, лучшему развитию корневой системы, что делает эту технологию конкурентоспособной относительно адаптации в условиях помещения фитотрона.

Для оценки экономической эффективности вариантов опыта, расчеты ведутся из соображений, что производство уже оборудовано необходимой техникой и оборудованием.

Расчеты по адаптации посадочного материала производили, исходя из площади 10 м² под высадку растений в гидропонной установке. Размер поддонов гидропонной установки составляют 120×47 см. В одном поддоне гидропонной установки помещается 5 кассет каждая вместимостью 40 ячеек, т.е. вместимость одного поддона составляет 200 растений. Площадь в 10 м² помещает многоярусные стеллажи с 40 поддонами- это 8000 растений. В Российской Федерации в настоящее время стандарты на посадочный материал, полученный путем размножения в условиях *in vitro* для декоративных культур не разработаны, поэтому мы руководствовались Национальным стандартом «Плодовые и ягодные культуры. Стерильные культуры и адаптированные микрорастения» ГОСТ Р 54051—2010 (приложение Е). Согласно требованиям документа, высота укорененных микрорастений для высадки на адаптацию должна быть не менее 5 см (приложение Е 1). Адаптация в условиях гидропоники проводится на протяжении месяца. Для получения адаптированного посадочного материала во второй декаде мая, высадку

растений на адаптацию начинают со второй декады апреля. Расходы на потребление электроэнергии, тепловой энергии и водоснабжения учитывали в региональном аспекте (г. Москва) (таблица 14).

Таблица 14- Расчет потребления электроэнергии, тепловой энергии и водоснабжения для помещения адаптационной

Наименование затрат	Единица измерения	Количество	Тарифная ставка / цена, руб.	Сумма, руб.
Возмещение потребления электроэнергии	кВт	1 049,00	6,85	7 185,65
Возмещение потребления тепловой энергии	Гкал	1,538	2 325,87	3 577,19
Возмещение потребления воды (водопровод-холодная вода) и приема сточных вод от гидропонной установки	м3	1	90,9	90,90
Возмещение потребления воды(водопровод-холодная вода) и приема сточных вод	м3	5	90,9	454,50

Итого: 11308, 24 рублей

Субстрат для выращивания растений выбираем из расчета приживаемости различных сортов гортензии. Рассчитываем объем субстрата в соотношении: агроперлит- 70%, минеральная вата- 30%, кокосовый субстрат- 10% (таблица 15).

Таблица 15- Расчет затрат на субстрат и кассеты для посадки 8000 растений

Наименование затрат	Единица измерения	Количество	Стоимость за единицу, руб	Сумма, руб
Кассета 48 ячеек 520×310×50 мм, 0,095 л	шт	167	48	8016
Субстрат минераловатный «Эковер» на 2400 растений	шт	2400	2	4800
Агроперлит на 4800 растений	л	460	750 руб / 50л	6900
Кокосовый субстрат «Ugro Cube» на 800 растений	л	80	115 руб /800 л	15

Итого: 19731,00 рублей

Также для эффективного функционирования гидропоники немаловажными являются затраты для покупки реактивов, применяемых в приготовлении рабочего раствора. Расчеты затрат на приготовление маточного раствора представлены в таблице 16.

Таблица 16- Расчет затрат на приготовление рабочего раствора на 8000 растений

Реактив	Фасовка, кг	Стоимость за указанный объем, руб	Необходимое количество для 10 литров маточного раствора, г	Стоимость реактивов на 10 литров маточного раствора, руб
K_2SO_4	20	2258	125	14,11
KH_2PO_4	20	3358	250	41,97
NH_4NO_3	20	958	75	3,59
KNO_3	20	2098	125	13,11
$Mg(NO_3)_2$	20	1238	250	15,47
$MgSO_4$	20	2220	250	27,75
$Ca(NO_3)_2$	20	1200	300	18
K_2O	1	580	1,5	0,04
Аквамикс	1	850	20	0,85
Железо 13%	1	920	12	0,55
Железо 6%	1	1050	10	0,52
Хелат марганца 13%	1	690	8	0,28

Итого: 136,24 рубля

10 литров маточного раствора хватает на 20 замен бакового раствора. Стоимость 1 замены бакового раствора обходится 6,81 рублей. В месяц необходимо 8 замен бакового раствора, а это $6,81 \times 8 = 54,50$ рублей на 8000 растений. Соответственно, стоимость реактивов на 1 растение равна 0,007 рублей. Завершающим моментом в выявлении экономической эффективности применения метода гидропоники на этапе адаптации регенерантов является расчет затрат труда (таблица 17). Нами были проведены расчеты себестоимости 1 саженца гортензии при выращивании в условиях *in vitro* после адаптации на гидропонной установке (учитывая 23 % потерь при адаптации) (таблица 18). Расчеты были проведены на количество растений после адаптации в гидропонной установке (6160 растений).

Таблица 17- Расчет затрат ручного труда на 8000 растений

Наименование работ	Объем работ		Норма выработки в месяц	Количество нормосмен	Тарифная ставка, руб.	Трудовые затраты, руб.
	Единица измерения	Количество				
Приготовление баковой смеси	час	2	16	8	1000	8000
Высадка растений, главный специалист	шт	200	4000	20	5000	100000
Высадка растений, лаборант	шт	200	4000	20	3000	60000
Обслуживание гидропонной установки	шт	1	1	1	10000	10000

Итого: 178000

Таблица 18- Расчет стоимости посадочного материала гортензии при адаптации в условиях гидропоники

Затраты при получении посадочного материала	На весь объем растений, руб	На 1 саженец, руб
Затраты на выращивание саженцев в условиях <i>in vitro</i>	128000	16,0
Затраты на выращивание саженцев в условиях гидропоники	209039,2	33,9
Себестоимость саженцев	337039,2	49,9
Выручка от реализации продукции стандартных саженцев	877800	150,0
Выручка от реализации продукции нестандартных саженцев	30800	100,0
Выручка всего, руб	908600,0	
Уровень рентабельности, %	169	

На основании полученных результатов можно констатировать, что производство саженцев по усовершенствованной технологии клонального микроразмножения является высокорентабельной, уровень рентабельности составляет 169%

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Установлено, что для максимальной реализации морфогенетического потенциала изученных представителей рода *Hydrangea* L. оптимальными являются питательные среды с минеральными основами MS и QL.

2. Показано, что на этапе собственно микроразмножения для культивирования гортензии эффективно использование в составе питательной среды 6-БАП в концентрации 1 мг/л. Коэффициент размножения при этом варьировал от 2,9 до 11,8 в зависимости от сорта.

3. Установлено, что оптимальным источником углеводного питания для представителей *H. paniculata* и *H. arborescens* является сахароза в концентрации 30 г/л, а для *H. macrophylla*- глюкоза в концентрации 30 г/л.

4. Выявлено, что в условиях длительного депонирования представителей рода *Hydrangea* L. в течение шести месяцев субкультивирования при +15 °С применение препарата ПБЗ в концентрации 0,4 мг/л обеспечивает сохранение максимальной жизнеспособности регенерантов. В условиях световой комнаты при +23 °С сохранность регенерантов не зависит от типа и концентрации ретардантов.

5. Установлено, что дополнительная досветка красным и синим спектрами света способствовала изменению морфометрических параметров листа и биохимического состава в тканях регенерантов, оказала положительное воздействие на процесс адаптации растений к воздействию низких положительных температур в условиях *in vitro*. В дальнейшем при выращивании растений в открытом грунте наблюдали положительное последствие досветки. В результате жизнеспособность вегетативных и генеративных почек увеличилась по сравнению с контролем в 3 раза.

6. Выявлено, что при адаптации укорененных регенерантов в условиях гидропоники наиболее эффективным субстратом является агроперлит фракции 1,25 мм. Использование гидропонной установки при адаптации растений-

регенерантов к нестерильным условиям дает возможность получения посадочного материала гортензии с развитой надземной частью и корневой системой за более короткий срок, чем при адаптации в условиях фитотрона.

7. Доказано, что производство саженцев по усовершенствованной технологии клонального микроразмножения является высокорентабельной: уровень рентабельности составляет 169%.

РЕКОМЕНДАЦИИ ПРОИЗВОДСТВУ

Для получения большого количества посадочного материала представителей рода *Hydrangea* L. в промышленных масштабах рекомендуется использовать способ клонального микроразмножения. Для достижения максимального коэффициента размножения на этапе собственно микроразмножения наиболее эффективным является применение питательных сред с минеральными основами MS и QL. Для сортов видов *H. paniculata* и *H. arborescens* в качестве источника углеводного питания рекомендуется использовать сахарозу, для сортов *H. macrophylla*- глюкозу. В качестве источника цитокинина наиболее эффективным является 6-БАП в концентрации 1 мг/л. Для повышения адаптационной способности представителей рода *Hydrangea* L. рекомендуется применение гидропонной установки, в качестве субстрата следует применять агроперлит и кокосовый субстрат. Для повышения зимостойкости *H. macrophylla* рекомендуется применение досветки регенерантов красным (85%) и синим (15%) спектрами света в условиях *in vitro*, а также применение лутрасила в качестве укрывного материала.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

MS – питательная среда по прописи Murashige and Skoog (1962)

QL – питательная среда по прописи Quoirin and Lepoivre (1977)

WPM –Woody Plant Medium питательная среда по прописи McCown and Lloyd (1981)

B5 – питательная среда по прописи Gamborg and Eveleigh, 1968.

6-БАП –6-бензиламинопурин

ГК 3- гибберелловая кислота

ИУК- Индол-3-уксусная кислота

ИМК- Индолил-3-масляная кислота

ССС- хлорхолинхлорид

ПБЗ- паклобутразол

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ахметова, Л. Р. Биотехнологические методы размножения декоративных сортов представителей рода *Hydrangea L.* / Л.Р. Ахметова, И. Л. Крахмалева, О.И. Молканова // Достижения науки и техники АПК. – 2020. – Т. 34. – №. 11. – С. 79-82.
2. Ахметова, Л. Р. Влияние применения гибберелловой кислоты на морфогенез представителей рода *Hydrangea L.* / Л. Р. Ахметова, О.И. Молканова, А.К. Раджабов // Плодоводство и ягодоводство России. – 2023. – Т. 75. – С. 36-47.
3. Белякова, А.В. Гортензия. Секреты выращивания / А.В. Белякова. - Подольск: ИП Демченко Е.Е., 2016. – 32 с.
4. Бурганская, Т.М. Цветоводство: учебное пособие / Т. М. Бурганская. - Минск: Вышэйшая школа, 2014. – 367 с.
5. Бутенко, Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе: учеб. пособие / Р.Г. Бутенко. - Москва: ФБК-Пресс, 1999. – 159 с.
6. Бьядовский, И.А. Клональное микроразмножение плодовых культур: метод. Рек / И.А. Бьядовский, М.Т. Упадышев - М.: ФГБНУ ФНЦ Садоводство, 2020. – 69 с.
7. Василевский, С. Новые горизонты в наших садах/ С. Василевский// Цветоводство. –2012. -№6. – С. 24-26.
8. Васильева, В.А. Ландшафтный дизайн малого сада / В.А. Васильева, А.И. Головня, Н.Н. Лазарев. - 2-е изд., перераб. и доп. - М.: Издательство Юрайт, 2020. – 319 с.
9. Ветчинкина, Е.М. Сохранение редких видов растений в генетических коллекциях *in vitro* / Е.М. Ветчинкина, И.В. Ширнина, С.Ю. Ширнин, О.И. Молканова // Вестник Балтийского федерального университета им. И. Канта. – 2012. – Вып. 7. – С. 109-118.

10. Вечернина, Н.А. Адаптация растений-регенерантов с использованием гидропоники / Н.А. Вечернина, О.К. Таварткиладзе, И.Д. Бородулина, А.А. Эрст // Известия Алтайского государственного университета. – 2008. – № 3. – С. 7-10.
11. Воробейков, Г.А. Повышение урожайных показателей редьки масличной путем инокуляции семян ассоциативными ризобактериями / Г. А. Воробейков, О. М. Дмитриева, Т. К. Павлова, В. Н. Лебедев // Физиологические и молекулярно-генетические аспекты сохранения биоразнообразия. – 2005. – С. 36-37.
12. Воронкова, Т. В. Влияние спектрального состава света на некоторые биохимические и морфологические показатели листьев регенерантов представителей рода *Hydrangea* L. в культуре *in vitro* / Т.В. Воронкова, В.В. Кондратьева, Л.С. Олехнович, Л.Р. Ахметова, О.И. Молканова // АгроЭкоИнфо: Электронный научно-производственный журнал. – 2022. – № 5.
13. Высоцкий, В.А. Микрклональное размножение подвоев яблони / В.А. Высоцкий, О.А. Леонтьев-Орлов - Садоводство. – М.: Колос, 1983. – 21 с.
14. Деменко, В.И. Адаптация растений, полученных *in vitro*, к нестерильным условиям / В.И. Деменко, В.А. Лебедев // Изв.ТСХА. –2011. – Вып. 1. – С. 60-70.
15. Деменко, В.И. Микрклональное размножение садовых растений: учебное пособие / В.И. Деменко. – М.: ФГОУ ВПО РГАУ - МСХА им. К. А. Тимирязева, 2007. – 55 с.
16. Доспехов, Б. А. Методика полевого опыта: (с основами статистической обработки результатов исследований): учебник для студентов высших сельскохозяйственных учебных заведений по агрономическим специальностям / Б. А. Доспехов. – Изд. 6-е, стер., перепеч. с 5-го изд. 1985 г. – Москва: Альянс, 2011. – 352 с.
17. Исачкин, А. В. Основы научных исследований в садоводстве: Учебник для бакалавров и магистров по направлению «Садоводство» / А. В. Исачкин, В. А. Крючкова. – Москва: Издательство "Лань", 2019. – 420 с.
18. Кондратьева, В. В. Изменение некоторых физиолого-биохимических характеристик тканей почки возобновления тюльпана Эйхлера (*Tulipa eichleri*

- Regel) в процессе зимовки // Региональные геосистемы. – 2011. – Т. 14. – №. 3-1 (98). – С. 339-345.
19. Красавцева, А. Сила красоты / А. Красавцева // Гармония сада: журнал. - 2008– С. 28-32.
20. Крахмалева, И. Л. и др. Влияние источника углеродного питания на морфогенетический потенциал представителей рода *Hydrangea* L. в культуре *in vitro* / Л. Р. Ахметова, О. И. Молканова // Тенденции развития науки и образования. – 2019. – №. 50-3. – С. 44-47.
21. Лутова, Л.А. Биотехнология высших растений / Л.А. Лутова - СПб.: Изд-во С.-Петербур. ун-та, 2010. – 240 с.
22. Макаров, С.С. Адаптация растений-регенерантов княженики арктической к условиям *ex vitro* с применением гидропоники / С.С. Макаров, М.Т. Упадышев, С.А. Родин, Т.А. Макарова, З.А. Самойленко, И.Б. Кузнецова // Сибирский лесной журнал. – 2023. – № 4. – С. 75-82.
23. Максименко, А.П. Ландшафтный дизайн: учебное пособие / А.П. Максименко, Д.В. Максимцов. - 3-е изд., стер. - Санкт-Петербург: Лань, 2019. – 160 с.
24. Маляровская, В.И. Размножение *Hydrangea macrophylla* ser. в культуре *in vitro* / В.И. Маляровская // Плодоводство и ягодоводство России. – 2017. – Вып.51 – С. 56-62.
25. Маляровская, В.И. Изменение ферментативной активности *Hydrangea macrophylla* (Thunb.) Ser. в зависимости от гидротермических условий влажных субтропиков России / В.И. Маляровская, О.Г. Белоус // Субтропическое и декоративное садоводство– 2018. – Вып. 65. – С. 160-166.
26. Маляровская, В.И. Историко-систематический обзор представителей рода *Hydrangea* В.И. / В. И. Маляровская // Вестник ИрГСХА. Биология. Охрана природы. – 2011. – Вып. 44. – С. 75-79.
27. Маляровская, В.И. Влияние спектрального состава света на рост и развитие *Lilium caucasicum* в условиях культуры *in vitro* / В.И. Маляровская, Т.М. Коломиец,

- Р.Н. Соколов, Л.С. Самарина // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университет. – 2013. – № 94. – С.1-11.
28. Мелехов, И.Д. Влияние спектрального состава света на размножение и рост ежевики *in vitro* / И.Д. Мелехов, С.А. Муратова // Наука и образование. – 2021. – Том 4 № 3. – С.1-10.
29. Митрофанова, И.В. Моделирование контролируемых условий, необходимых для адаптации и длительного хранения растительного материала декоративных, ароматических и плодовых культур в генобанке *in vitro*: Методические рекомендации / И.В. Митрофанова. – Симферополь: ИТ «АРИАЛ», 2018. – 69 с.
30. Молканова, О.И. Генетические банки растений в ботанических садах России / О.И. Молканова // Биология растений и садоводство: теория, инновации. – 2009– №131. – С. 22-27.
31. Мурзабулатова, Ф.К. Биология семян представителей рода *Hydrangea* L. в Южно-Уральском ботаническом саду (г. Уфа) / Ф.К. Мурзабулатова, Н.В. Полякова // Вестник Пермского университета. Серия: Биология. – 2020– №. 1. – С. 13-18.
32. Мурзабулатова, Ф.К. Опыт изучения размножения представителей рода *Hydrangea* L. черенками в различных экологических условиях в Республике Башкортостан / Ф.К. Мурзабулатова, Н.В. Полякова // Самарский научный вестник. – 2020. – Т. 8. – №. 1(30). – С. 75-78.
33. Новикова, Т.И. Использование биотехнологических подходов для сохранения биоразнообразия растений / Т.И. Новикова // Растительный мир Азиатской России. – 2013. – № 2(12). – С. 119-128.
34. Новикова, Т.И. Сохранение редких и полезных растений в коллекции Центрального Сибирского ботанического сада / Новикова Т.И., А.Ю. Набиева, Т.В. Полубоярова // Вестник ВОГиС. – 2008. – Т. 12. – № 4. – С. 564-572.
35. Папихин, Р.В. Факторы, влияющие на микроклубнеобразование картофеля / Р.В. Папихин, Г.М. Пугачёва, С.А. Муратова, Ю.В. Мазаева, К.Е. Никонов // Наука и образование. – 2021. – Том. 4. (1). – С.1-8.

36. Пилипенко, Ф.С. Род 5. Гортензия - *Hydrangea* L. / Ф.С. Пилипенко // Деревья и кустарники СССР. – М. –Л., – 1954– Т. 3. – С. 162-172.
37. Пилюгина, В.В. Выращивание посадочного материала зелеными черенками/ В.В. Пилюгина, Ф.Я. Поликарпова. – Росагропромиздат – М., 1991. – 96 с.
38. Прибылова, А.С. Вредители и болезни гортензии и меры борьбы с ними / А.С. Прибылова, М.Ю. Карпухин // Современное направление в плодовоовощеводстве и декоративном садоводстве. – 2020. – С. 115-115.
39. Прижмонтас, Т.Р. Действие ауксинов на укореняемость зелёных черенков вишни / Т.Р. Прижмонтас // Садоводство и виноградарство. –1991. – № 4. – С. 18-20.
40. Сапелин, А.Ю. Декоративные деревья и кустарники: 100 лучших видов и сортов. Выбор и обрезка. Использование в дизайне/ А.Ю. Сапелин. –Москва: ЗАО «Фитон +», 2008. – 63 с.
41. Смирнова, Т.В. Гортензия. Каталог сортов (переиздание 2023) / Т.В. Смирнова // Издатель: Москва, 2023. – 148 с.
42. Тарасенко, М.Т. Зеленое черенкование садовых и лесных культур / М. Т. Тарасенко. –М.: Изд-во МСХА, 1991. – 268с.
43. Тимонин, А.К., Ботаника: в 4 т: учебник / А.К. Тимонин, Д.Д. Соколов, А. Б. Шипунов. – М.: Издательский центр «Академия», 2009. – 352 с.
44. Фомин, Е.М. Гортензия / Е.М. Фомин. - М.: Колос, 1967. – 44 с.
45. Френкина, Т. Цветочные скульптуры / Т. Френкина // Цветоводство. – 2005. – №.9. – С.34-35.
46. Хлебникова, Д.А. Влияние спектрального состава света на рост растений чабера садового (*Satureja hortensis* L.) в культуре *in vitro* / Д.А. Хлебникова, А.А. Лобова, О.Н. Аладина, М.Ю. Чередниченко // Овощи России. – 2019. – № 6. – С. 72-75.
47. Шведе, Е.Е. Луи Антуан де Бугенвиль и его кругосветное плавание / Е.Е. Шведе – М.: Глав. Изд-во геогр. литературы, 1961. – 359 с.

48. Шипунова, А.А. Клональное микроразмножение садовых культур: дис. канд. с/х наук. / Анна Аркадьевна Шипунова –М., 2003. – 172 с.
49. Эрст, А.А. Адаптация регенерантов *Rhododendron hybridum* к условиям *ex vitro* / А.А. Эрст, Т.И. Новикова, А.В. Каракулов, Ю.Г. Зайцева // Региональные геосистемы. – 2012– Вып.19(9). – С. 44-48.
50. Abinaya, M. Blue led light enhances growth, phytochemical contents, and antioxidant enzyme activities of *Rehmannia glutinosa* cultured *in vitro* / M. Abinaya, S. Prabhakaran, H. Nur, H. Chung, R. Byoung // Environ. Biotechnol. – 2015. – Vol. 56. – P. 105-113.
51. Abe, R. An ethnobotanical study of medicinal plants and traditional therapies on Batan Island, the Philippines / R. Abe, K. Ohtani // J. Ethnopharmacol. – 2013. –Vol.145 (2). – P. 554-65.
52. Abou Dahab, T.A.M. *In vitro* propagation of *Hydrangea macrophylla* Thunb. / T.A.M. Abou Dahab // Arab. J. Biotech. – 2007. –Vol. 10(1) – P. 161-178.
53. Adelberg, J. Tascan m. Larger plants from liquid-based micropropagation: a case study with *Hydrangea quercifolia* ‘Sikes Dwarf’/ J. Adelberg, J. Naylor-Adelberg, M Tascan. // Combined Proceedings of the International Plant Propagators’ Society. - 2006. – Vol. 56. – P. 67-60.
54. Ahres, M. The Effect of White Light Spectrum Modifications by Excess of Blue Light on the Frost Tolerance, Lipid- and Hormone Composition of Barley in the Early Pre-Hardening Phase / M. Ahres, T. Pálmai, T. Kovács, L. Kovács, J. Lacek, R. Vankova, G. Galiba, P. Borbély // Plants. – 2022. – Vol. 12(1). – P. 40.
55. Aires, A. Hydroponic production systems: Impact on nutritional status and bioactive compounds of fresh vegetables / A. Aires // Vegetables - importance of quality vegetables to human health / IntechOpen. – 2018. – P. 55-66.
56. Albrecht, C. Optimization of tissue culture media/ C. Albrecht // Comb. Proc. Intern. Plant Propagators Soc.-1986. – T.35. – P.196-199.
57. Alexander, L.W. Production of polyploidy *Hydrangea macrophylla* via unreduced gametes / L.W. Alexander // HortScience. – 2017. - Vol. 52(2). – P. 221-224.

58. Arafa M. S. Large scales of *Hydrangea macrophylla* using tissue culture technique / M.S. Arafa, A.A. Nower, S. Helme., H.A. Abd-Elaty // *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.* – 2017. – Vol. 6 (5). – P. 776-778.
59. Artetxe, A. Effects of container size and substrates on *Hydrangea macrophylla* growth / A. Artetxe, V. Terés, A.I. Beunza // *Acta Hort.* – 1996. – Vol. 450. – P. 419-424.
60. Bailey, D.A. *Hydrangea production* / D.A. Bailey. - Portland: Timber press, 1989. – P. 91.
61. Bailey, D.A. Substrates pH and water quality / D.A. Bailey, P.V. Nelson, W.C. Fonteno // North Carolina State University: Raleigh, NC, USA. –2000.
62. Bekheet, S.A. *In vitro* preservation of *Asparagus officinalis* / S.A. Bekheet // *Biologia Plantarum.* – 2000. – Vol. 43. – P. 179-183.
63. Bertrand, H. Genome size variation and species relationships in the genus *Hydrangea* / H. Bertrand, C. Lambert // *Theor. Appl. Genet.* –2001. – Vol. 103(1) – P. 45-51.
64. Bhatt, I.D. Morphological and chemical evaluation of the plants regenerated from cold-stored *in vitro* shoots of *Datura metel* L. / I.D. Bhatt, S. Kobayashi, J.I. Chang, N. Hiraoka // *Natural Medicines.* – 2005. – Vol. 59. – P. 121-124.
65. Bi, G. Rate of nitrogen fertigation during vegetative growth and spray application of urea in the fall alters growth and flowering of florists' hydrangeas / G. Bi, C.F. Scagel, R.L. Harkess // *HortScience.* – 2008. – Vol. 43. – P. 472-477.
66. Blom, T.J. Florists' hydrangea bluening with aluminum sulfate applications during forcing / T.J. Blom, B.D. Piott // *HortScience.* – 1992. – Vol. 27 (10) – P. 1084.
67. Boccon-Gibod, J. *In vitro* regeneration system of *Hydrangea macrophylla* plantlets from leaves and internodes / J. Boccon-Gibod, C. Billard, S. Maltete // *Acta Horticulturae.* – 2000. – Vol. 508. – P. 229-232.
68. Cai, M. Production of interspecific hybrids between *Hydrangea macrophylla* and *Hydrangea arborescens* via ovary culture / M. Cai, K. Wang, L. Luo, H.T. Pan, Q.X. Zhang, Y.Y. Yang // *HortScience.* – 2015. – Vol. 50. – P. 1765-1769.

69. Chen, L. Effects of different LEDs light spectrum on the growth, leaf anatomy, and chloroplast ultrastructure of potato plantlets *in vitro* and minituber production after transplanting in the greenhouse / L. Chen, K. Zhang, X. Gong, H. Wang, Y. Gao, X. Wang, Y. Hu // *Journal of Integrative Agriculture*. – 2020. – Vol. 19. – P. 108-119.
70. Church, G. *Hydrangeas* / G. Church - Buffalo, NY: Firefly Books, 2001. – 96 p.
71. Conwell, T. Pruning decisions for containerized hydrangeas / T. Conwell, K. Tilt, D. Findley, H. Ponder, K. Bowman // *Proc. So. Nur. Res. Assoc.* – 2002 – Vol. 47. – P. 495-498.
72. Cristiane, P.V. Light spectra affect the morphoanatomical and chemical features of clonal *Phyllanthus tenellus* Roxb grown *in vitro* / P.V. Cristiane, V. Marcos, E. Leal-costa, T. Schwart, R. Tavares, K. Machado, L. Celso // *Soc.* – 2015. – Vol. 114. – P. 69-119.
73. De Smet, Y. Multilocus coalescent species delimitation to evaluate traditionally defined morphotypes in *Hydrangea* sect. *Asperae* (Hydrangeaceae) / Y. De Smet, O. De Clerck, T. Uemachi, C. Granados Mendoza, S. Wanke, P. Goetghebeur, M.S. Samain // *Molec. Phylogen. Evol.* –2017. – Vol. 114. –P. 415-425.
74. Deans, L. *In vitro* induction and characterization of polyploid *Hydrangea macrophylla* and *H. serrata* / L. Deans, I. Palmer, D. Touchell, T. Ranney // *HortScience*. – 2021. – Vol. 56. – P.1-7.
75. Dhooghe, E. Mitotic chromosome doubling of plant tissues *in vitro* / E. Dhooghe, K.V. Laere, T. Eeckhaut, L. Leus, J.V. Huylenbroeck // *Plant cell tissue organ cult.* - 2011. – Vol. 104(3). – P. 359-373.
76. Dieleman, A. J. LED lighting strategies affect physiology and resilience to pathogens and pests in eggplant (*Solanum melongena* L.) / A. J. Dieleman // *Frontiers in Plant Science*. – 2021. – P. 2087.
77. Dirlik, C. Effects of different culture media compositions on *in vitro* micropropagation from Paradox walnut rootstock nodes / C. Dirlik, H. Kandemir, N. Çetin, S. Şen, B. Güler, A. Gurel // *Gazi University Journal of Science Part A: Engineering and Innovation*. –2022. – Vol. 9. – P. 500-515.

78. Dirr, M. A. Cold hardiness estimates of woody taxa from cultivated and wild collections / M.A. Dirr, O.M. Lindstrom Jr., R. Lewandowski, M.J. Vehr // *J. Environ. Hortic.* – 1993. – Vol. 11. – P. 200-203.
79. Dirr, M. *Hydrangeas for American gardens* / M. Dirr. - Portland: Timber Press, 2004. – P. 236- 237.
80. Doil, A. *In vitro* regeneration and propagation of *Hydrangea macrophylla* Thunb. ‘Nachtgall’ Doil / A. Zhang, R. Schum, A. Serek, M. Winkelmann T., Winkelmann // *Propagation of Ornamental Plants.* –2008. – Vol. 8(3). – P. 151-153.
81. Donna I. Thidiazuron stimulates adventitious shoot production from *Hydrangea quercifolia* Bartr. leaf explants / I. Donna, J. Ledbetter, E. Preece // *Scientia Horticulturae.* – 2004. – Vol. 101 –P. 121-126.
82. Ergür, E.G. How to manipulate hydrangea flower colour (*Hydrangea macrophylla* Thunb.)? / Ergür E., S. Kazaz, T. Kiliç, E. Dogan, B. Aslansoy // *Acta Horticulturae.* – 2019. – P. 125-132.
83. Fu, Y. A high-performance ground-based prototype of horn-type sequential vegetable production facility for life support system in space / Y. Fu, H. Liu, L. Shao, M. Wang, Y.A.Berkovich, A.N. Erokhin, H. Liu // *Advances in Space Research.* – 2013. – Vol. 52(1). – P. 97-104.
84. Gamborg, O.L. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells / O.L. Gamborg, R.A. Miller, K. Ojima // *Experimental Cell Research.* – 1968. – Vol. 50(1). – P. 151-158.
85. Gelderen, C.J. *Encyclopedia of Hydrangeas* / C.J. Gelderen, D.M. Gelderen - Portland, Cambridge: Timber Press, 2004. –P. 279
86. George, E.F. Effects of the physical environment. In: *Plant propagation by tissue culture* / E.F. George, W. Davies. - The Netherlands: Springer, 2008. –P. 423-464.
87. Gooran, N. The effect of different light spectrum ratios and photosynthetic photon flux density (ppfd) on some agronomic and physiological traits in *Artemisia annua* L. / N. M. Gooran, S. Jalali Honarmand, D. Kahrizi // *Journal of Medicinal plants and By-Products.* – 2022. – Vol. 11(2). – P. 139-147.

88. Greer, S. Dormancy and germination *in vitro* response of *Hydrangea macrophylla* and *Hydrangea paniculata* seed to light, cold-treatment and gibberellic acid / S. Greer, T. Rinehart // *Journal of Environmental Horticulture*. - 2010. - Vol. 28. - P. 41-47.
89. Guo, Z.M. Effects of temperature and photoperiod on the bud formation of *Hydrangea* / Z.M. Guo, M. Goi, T.S. Fukai // *Tech Bull Fac Agric Kagawa Univ.* - 1995. - Vol. 47. - P. 23-31.
90. Hagen, E. Growth and water consumption of *Hydrangea quercifolia* irrigated by on demand and daily water use irrigation regimes / E. Hagen, S. Nambuthiri, A. Fulcher, R. Geneve // *Scientia Hort.* – 2014. –Vol. 179. – P. 132-139.
91. Hu, W. Endogenous auxin and its manipulation influence *in vitro* shoot organogenesis of citrus epicotyl explants / W. Hu, S. Fagundez, L. Katin-Grazzini, Y. Li, W. Li // *Horticulture Research*. – 2017. – Vol. 4(1) – P. 471.
92. Hufford, L. Ontogeny and morphology of the fertile flowers of *Hydrangea* and allied genera of tribe Hydrangeae (Hydrangeaceae) / L. Hufford // *Bot. J. Linnean Soc.* –2001. – Vol. 137 (2). – P. 139-187.
93. Ito, D., Shinkai, Y., Kato, Y., Kondo, T., and Yoshida, K. Chemical studies on different color development in blue- and red-colored sepal cells of *Hydrangea macrophylla* / D. Ito, Y. Shinkai, Y. Kato, T. Kondo, K. Yoshida // *Biosci. Biotechnol. Biochem.* – 2009. – Vol. 73 (5) – P. 1054-1059.
94. Jarrett, A. The hydrangea story / A. Jarrett // *Gardens West*. –1993. - Vol. 7. – № 2. –P. 6-9.
95. Jin, S.X. Detection of somaclonal variation of cotton (*Gossypium hirsutum*) using cytogenetics, flow cytometry and molecular markers / S.X. Jin, R. Mushke, H.G. Zhu, L.L. Tu, Z.X. Lin, Y.X. Zhang, X.L. Zhang // *Plant Cell Rep.* – 2008. – Vol. 27. – P. 1303-1316.
96. Jones, K.D. Analysis of ploidy level and its effects on guard cell length, pollen diameter, and fertility in *Hydrangea macrophylla* / K.D. Jones, S.M. Reed, T.A. Rinehart // *HortScience*. – 2007. – Vol. 42(3) – P. 483.

97. Jung, C.H. The establishment of efficient bioconversion, extraction, and isolation processes for the production of phyllo dulcin, a potential high intensity sweetener, from sweet hydrangea leaves (*Hydrangea macrophylla* Thunbergii) / C.H. Jung, Y. Kim, M.S. Kim, S. Lee, S.H. Yoo // *Phytochem. Anal.* –2016. – Vol. 27. – P. 140-147.
98. Kardos, J. The Principles and Practices of Breeding Hydrangeas / J. Kardos // *Combined Proceedings International Plant Propagators' Society.* 2006 – Vol. 56. – P. 534-537.
99. Kardos, J.H. Production and verification of *Hydrangea macrophylla* × *H. angustipetala* hybrids / J.H. Kardos, C.D. Robacker, M.A. Dirr, T.A. Rinehart // *HortSci.* –2009. – Vol. 44 (6). – P.1534-1537.
100. Kavana, G.B. Application of hydroponics and aeroponics in commercial flowers and ornamentals / G.B. Kavana // *ResearchGate.*–2023. –P. 1-37.
101. Kondratovičs, T. Effect of different spectral composition led lighting on silver birch *in vitro* plantlet morphology / T. Kondratovičs, M. Zeps // *Forestry and wood processing research for rural development.*–2022. – Vol. 37 – P. 63-69.
102. Kovács, T. Decreased R:FR ratio in incident white light affects the composition of barley leaf lipidome and freezing tolerance in a temperature-dependent manner / T. Kovács,; M. Ahres,; T. Pálmai, L. Kovács, M. Uemura, C. Crosatti, G. Galiba // *Int. J. Mol. Sci.* –2020. – Vol. 21.–P. 7557.
103. Kudo, N. Novel interspecific hybrid plant between *Hydrangea scandens* ssp. *Chinensis* and *H. macrophylla* via ovule culture / N. Kudo, T. Matsui, T.A. Okada // *Plant Biotechnol.* – 2008. – Vol. 25. – P. 529-533.
104. Kudo, N. Y. Production of interspecific hybrid plants through cotyledonary segment culture of embryos derived from crosses between *Hydrangea macrophylla* f. *hortensia* (Lam.) Rehd. and *H. arborescens* L. / N. Kudo, Y. Niimi // *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.* – 1999. – Vol. 68. – P. 803-809.
105. Kyte, L. *Plants from Test Tubes. An Introduction to Micropropagation.* Timber Pres/ L. Kyte, L. Kleyn //Inc. Portland Oregon. – 1987. – P. 1-159.

106. Landis, H. Hydrangea nutrition: upper leaf interveinal chlorosis (iron deficiency) / H. Landis, B.E. Whipker // e-GRO Alert. – 2017. – Vol. 6 (14). – P. 1-4.
107. Lawson-Hall, T. Hydrangeas: A gardener's guide / T. Lawson-Hall, B. Rothera - Portland, Oregon: Timber Press, 2005. – P.160.
108. Leelavathy, S. Curbing the menace of contamination in plant tissue culture / S. Leelavathy, P.D. Sankar // Journal of Pure and Applied Microbiology. –2016. – Vol. 10 (3) – P. 2145-2152.
109. Li, H. Effects of different light sources on the growth of non-heading Chinese cabbage (*Brassica campestris* L.) / H. Li, M. Tang, M. Xu, Z.G. Liu, X.Y. Han // J Agric Sci. – 2012. – Vol. 4. – P. 262-273.
110. Li, T. Nitrogen fertilization, container type, and irrigation frequency affect mineral nutrient uptake of hydrangea / Li, T., Bi, G., Zhao, X., Harkess, R. L., & Scagel, C. // HortScience. – 2019. – Vol. 54. – P. 167-174.
111. Li, Y. Diseases of Hydrangea / Y. Li, M. Mmbaga, B. Zhou, J. Joshua, E. Rotich, L. Parikh // Handbook of Florists' Crops Diseases. – 2016. – P 1-19.
112. Liang, H. et al. Shoot organogenesis and somatic embryogenesis from leaf and root explants of *Scaevola sericea*/ H. Liang //Scientific Reports. – 2020. – T. 10. – №. 1. – P. 11343.
113. Liu, F. Shoot organogenesis in leaf explants of *Hydrangea macrophylla* 'Hyd1' and assessing genetic stability of regenerants using ISSR markers / F. Liu, L.-L. Huang, Y.-L. Li, P. Reinhoud, M.Jongsma, C.-Y. Wang // Plant cell tissue and organ culture. – 2011. – Vol. 104. – P. 111-117.
114. Luc, T. Growth performance of *Hydrangea macrophylla* 'Glowing Embers' on culture medium with different macro-element concentrations and culture conditions / T. Luc, N. Minh, Q. Nguyen // Academia journal of biology. –2020. – Vol. 42. – P. 61-71.
115. Mallet, C. Hydrangeas: species and cultivars / C. Mallet, R. Mallet, H. Van Trier // Center d'Art Floral, Varengeville, France. 1992.

116. Maximowicz, C. J. *Revisio Hydrangearum Asiae Orientalis* / C. J. Maximowicz *Mémoires de l'Académie Impériale des Sciences de Saint Pétersbourg*. 1867. – Sér. 7, № 10. – P. 6-18.
117. McClintock, E.A. *Monograph of the genus Hydrangea* / E.A. McClintock // *Proc. Calif. Acad. Sci.* – 1957. –№ XXIX. –P.147-256.
118. McCown, B.H. *Woody Plant Medium (WPM) - a mineral nutrient formulation for microculture of woody plant species* / B.H. McCown, G. Lloyd // *HortScience*. –1981. – Vol. 16. – P. 453-453.
119. Mendes M.I.S., Verde D.S.V., Ramos A.P.S., Gesteira A.S., Filho W.S.S., Souza A.S. *In vitro* conservation of citrus rootstocks using paclobutrazol and analysis of plant viability and genetic stability / M.I.S. Mendes, D.S.V. Verde, A.P.S. Ramos, A.S. Gesteira, W.S.S. Filho, A.S Souza // *Scientia Horticulturae*. – 2021. – Vol. 286. – P. 110231.
120. Miralles, J. *Irrigation of Hydrangea with saline reclaimed wastewater: Effects of fresh water flushing* / J. Miralles, R. Valdéz, J.A. Franco, S. Bañón, M.J. Sánchez-Blanco // *Acta Hort.* – 2013. – Vol. 1000. – P. 229-236.
121. Momoko, I. *Molecular mechanisms of plant regeneration* / I. Momoko, S.F. David, S. Yuki, I. Akira, C. Duncan // *Annual Review of Plant Biology*.–2019. – Vol. 70(1). – P. 377-406.
122. Murashige, T. *A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures* / Murashige T., Skoog F. // *Plant Physiology*. –1962. – Vol.15. – P. 473-497.
123. Mustoe, G. *Hydrangea fossils from the early Tertiary Chuckanut Formation* / G. Mustoe // *Washington Geology*. – 2002–Vol. 30. – P. 17-20.
124. Myung, D.B. *Oral intake of Hydrangea serrata (Thunb.) Ser. leaves extract improves wrinkles, hydration, elasticity, texture, and roughness in human skin: a randomized, double-blind, placebo-controlled study* / D.B. Myung, J.H. Lee, H.S. Han, K.Y. Lee, H.S. Ahn, Y.K. Shin, E. Song, B.H. Kim, K.H. Lee, S.H. Lee // *Nutrients*. – 2020. –Vol. 12. – P. 1588.

125. Nesi, B. Effects of colored shade netting on the vegetative development and on the photosynthetic activity in several *Hydrangea* genotypes / B. Nesi, S. Lazzereschi, S. Pecchioli, A. Grassotti, G. Salazar-Orozco // *Acta Hort.* – 2013. – Vol. 1000 (1) –P. 345-352.
126. Nesi, B. *In Vitro* Ovule culture to improve genetic variability in *Hydrangea macrophylla* / B. Nesi, L. Ghiselli, M. Gori, R. Natale, R. Tomiozzo, A. Mansuino, S. Biricolti // *Horticulturae*. – 2023. - Vol. 9 (9). – P.1028.
127. Nguyen, Q.T. Photoautotrophic micropropagation. In: *Plant Factory-An indoor vertical farming system for efficient quality food production (1st edition)*. / Q.T. Nguyen, Y. Xiao, T. Kozai. - California, USA: Academic Press, Elsevier, 2016. – P. 271-283.
128. Ohba, H. A revision of the species of *Hydrangea* (Hydrangeaceae) described by Siebold and Zuccarini, Part 1 / H. Ohba, S. Akiyama // *Bulletin of the National Museum of Nature and Science. Series B, Botany*. – 2013. – Vol. 39 (4) – P. 173-194.
129. Owen, J. *Hydrangea* production: cultivar selection and general practices to consider when propagating and growing *Hydrangea* / J. Jr. Owen, A. Fulcher, A. Lebude, M. Chappell // *University of Tennessee Institute of Agriculture*. – 2016. – P. 1-12.
130. Pan, M. The effect of activated charcoal and auxins on root formation by hypocotyl segments of *Daucus carota* / M. Pan, J. Van Staden // *Afr. J. Bot.* – 2002. – Vol. 68. – P. 349-356.
131. Pietsch, G.M. Phytotoxicity and blue when producing *Hydrangea macrophylla* in a nursery at a low substrate pH / G.M. Pietsch, J.C. Brindley, J.S. Jr. Owen, A.A. Fulcher // *Horticulturae*. – 2022. – Vol. 8. – P. 690.
132. Pratheeksha, T. *Hydrangea* - a magical spectacular flower / T. Pratheeksha // *Kerala karshakan (e-journal)*. –2022. – P. 1-10.
133. Preece, J.E. The influence of thidiazuron on *in vitro* shoot proliferation of oak leaf *Hydrangea*. *Hydrangea quercifolia* Bartr. / J.E. Preece, D.I. Ledbetter // *Acta Hort.* – 2003. – Vol. 625. –P. 233-236.
134. Preusche, M. Culture methods for high hydrangenol and phyllodulcin contents in *Hydrangea macrophylla* subsp. *serrata* (Thunb.) Makino / M. Preusche, J. Ley, M. Schulz,

- S. Hillebrand, M. Blings, A. Theisen, A. Ulbrich // *European Journal of Horticultural Science*. –2022. – Vol. 87. – P. 1-12.
135. Quoirin, M. Improved medium for *in vitro* culture of *Prunus* sp. / M. Quoirin, P. Lepoivre. // *Acta Horticulturae*. – 1977. – Vol. 78. – P. 437-442.
136. Ranney, T.G. Polyploidy: From evolution to new plant development / T.G. Ranney // *Proc. Intl. Plant Propagators’ Soc.* – 2006. – Vol. 56. – P.137-142.
137. Ray, S. S. Biotic contamination and possible ways of sterilization: a review with reference to bamboo micropropagation / S.S. Ray, N. Ali // *Brazilian Archives of Biology and Technology*. – 2016. – Vol. 59. – P. 1-11.
138. Reed, B.M. Cold storage and cryopreservation of hops (*Humulus* L.) shoot cultures through application of standard protocols / B.M. Reed, N. Okut, J. D’Achino, L. Narver, J. DeNoma // *CryoLetters*. – 2003. – Vol. 24. – P. 389-396.
139. Reed, S.M. Development of an *in ovo* embryo culture procedure for *Hydrangea* / S.M. Reed // *Hort.* – 2000. – Vol. 18. – P. 34-39.
140. Reed, S.M. Verification and establishment of *H. macrophylla* ‘Kardinal’ × *H. paniculata* ‘Brussels Lace’ interspecific hybrids / S.M. Reed, G.M. Riedel, M.R. Pooler, J. Environ // *Hort.* – 2001. – Vol.19. –P. 85-88.
141. Rinehart, T.A. An update on *Hydrangea macrophylla* breeding targets and genomics / T.A. Rinehart, P.A. Wadl, M.E. Staton // *Acta Hort.* – 2018. - Vol. 1191. – P. 217-224.
142. Sacco, E. *In vitro* propagation and regeneration of several hydrangea genotypes / E. Sacco, M. Savona, M. Antonetti, A. Grassotti, P.L. Pasqualetto, B. Ruffoni // *Acta Hort.* – 2012. – *Acta Hort.* – Vol. 937. – P. 565-572.
143. Sakaguchi, S. Inferring historical survivals of climate relicts: The effects of climate changes, geography, and population-specific factors on herbaceous hydrangeas / S. Sakaguchi, Y. Asaoka, D. Takahashi, Y. Isagi, R. Imai, A.J. Nagano, Y.X. Qiu, P. Li, R. Lu, H. Setoguchi // *Heredity*. – 2021.–Vol. 126. – P. 615-629.
144. Sebastian, T.K. *In vitro* propagation of *Hydrangea quercifolia* Bartr. / T.K. Sebastian, C.W. Heurser // *Scientia Hort.* – 1987. – Vol. 31. – P. 303-309.

145. Sherwood, A. Genetic and horticultural characterization of *Hydrangea quercifolia* Bartr. (oakleaf hydrangea) throughout its natural range of occurrence: thesis for the degree of Master of Science / Sherwood Andrew. – Minnesota, 2020. – P. 103.
146. Shukla, P.S. High-frequency *in vitro* shoot regeneration in *Cucumis sativus* by inhibition of endogenous auxin / P.S. Shukla, A.K. Das, B. Jha, P.K. Agarwal // *In Vitro Cellular Developmental Biology Plant*. – 2014. – Vol. 50. – P. 729-737.
147. Šiško, M. *In vitro* tissue culture initiation from potted and garden *Hydrangea macrophylla* explants / M. Šiško // *Agricultura* [online]. – 2016. – Vol. 13. – № 1/2. – P. 65-69.
148. Soner, K. S. Vase life extension of cut hydrangea (*Hydrangea macrophylla*) flowers / K. Soner, K. Tugba, D. Meral, E. Şafak, S. Şafak // *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. –2020. – Vol. 95. – P. 325-330.
149. Stoltz, L.P. *In vitro* propagation and growth of *Hydrangea* / L.P. Stoltz // *HortScience*. – 1984. – Vol. 19(5) – P. 717-719.
150. Sukhikh, N. Genetic variation in *Hydrangea macrophylla* (Thunb.) ser. In Russia based on simple sequence repeat markers / N. Sukhikh, V.I. Malyarovskaya, A. Kamionskaya, L. Samarina, Vinogradova S. // *Bangladesh Journal of Botany*. – 2018. – Vol.47 (4). – P. 937-943.
151. Tamayo-Ordóñez, M.C. Advances and perspectives in the generation of polyploid plant species / M.C. Tamayo-Ordóñez, L.A. Espinosa-Barrera, Y.J. Tamayo-Ordóñez, B. Ayil-Gutierrez, L.F. Sanchez-Teyer // *Euphytica*. – 2016. – Vol. 209(1). – P. 1-22.
152. Tekielska, D. Bacterial contamination of plant *in vitro* cultures in commercial production detected by high-throughput amplicon sequencing / D. Tekielska, E. Peňázová, T. Kovács, B. Křižan, J. Čechová, A. Eichmeier // *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*. – 2019. – Vol. 67(4). – P.1005-1014.
153. Touchell, D.H. I.E. Palmer, T.G. Ranney. *In vitro* ploidy manipulation for crop improvement / D.H. Touchell, I.E. Palmer, T.G. Ranney // *Front. Plant Sci*. – 2020. – Vol. 11. – P. 722- 723.

154. Turner, S. Genetic fidelity and viability of *Anigozanthos viridis* following tissue culture, cold storage and cryopreservation / S. Turner, S.L. Krauss, E. Bunn, T. Senaratna, K. Dixon, B. Tan, D. Touchell // *Plant Science*. –2001.–Vol. 161 – P. 1099-1106.
155. Vahdati, K. Micropropagation of some dwarf and early mature walnut genotypes / K. Vahdati, R. Razaee, M. Mirmasoomi // *Biotechnology*. – 2009. – Vol. 8. – P. 171–175.
156. Varghese, N. Plant tissue culture contaminants identification and its response to fumigation / N.Varghese, P. P. Joy // *Technical Report*. – 2016. – P. 1-10.
157. Veitch, J. Hortus Veitchii: a history of the rise and progress of the nurseries of Messrs. James Veitch and sons, together with an account of the botanical collectors and hybridists employed by them and a list of the most remarkable of their introductions / J. Veitch -London: J. Veitch & sons, 1907. – 606 p.
158. Wang, M. Effects of different elevated CO₂ concentrations on chlorophyll contents, gas exchange, water use efficiency, and PSII activity on C₃ and C₄ cereal crops in a closed artificial ecosystem / M. Wang, B. Xie, Y. Fu, D. Chen, H. Liu, G. Liu, H. Liu, // *Photosynthetic Research*. – 2015. – Vol. 126.–P. 351-362.
159. Wang, Si. An efficient plant regeneration system of *Hydrangea bretschneideri* dipp via stem segments as explants / Si Wang, J. Yan, Bu Ha, Yu'e Bai, // *Phyton*. – 2021. – Vol. 90. – P. 595-604.
160. Wellburn, A. R. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution / Wellburn A. R. // *Journal of plant physiology*. – 1994. – Part 144. – №. 3. – P. 307-313.
161. Wudali, S. Role of plant tissue culture medium components / S. Wudali, P. Nagella, J. Al-Khayri, S. Jain. - In book: *Advances in plant tissue culture: current developments and future trends* - Publisher: Academic Press, Elsevier, 2022 – P.51-83.
162. Xiao, J. Iron supplement-enhanced growth and development of *Hydrangea macrophylla* *in vitro* under normal and high pH / J. Xiao, G. Guo, B.R. Jeong // *Cells*. – 2021. – Vol. 10. – P. 3151.

163. Yang, X. Response of photosynthetic capacity of tomato leaves to different LED light wavelength / X. Yang, H. Xu, L. Shao, , W.Y. Li, R. Wang // Environ. Exp. Bot. – 2018. – Vol. 150. – P. 161-171.
164. Yang, X.D. An updated infrageneric classification based on phylogenomics and character evolution in *Hydrangea* (Hydrangeaceae) / X.D. Yang, T. Xue, T. Gao, Y. Liang, E. Smets, S. Gadagkar, S. X. Yu // Taxon. – 2024. – Vol. 73. – Issue 2. – P. 503-518.
165. Yoon, J. H. *Hydrangea serrata* hot water extract and its major ingredient hydrangenol improve skin moisturization and wrinkle conditions via AP-1 and Akt/PI3K Pathway Upregulation / J. H. Yoon, S. Park, S. Yoon, S. Hong, J. Lee, J. Lee, J. Cho // Nutrients. – 2023. – Vol. 15. – P. 2436.
166. Yu, Y. Factors affecting efficient plant regeneration from wheat mature embryos / Yu Y, Wei ZM // J Mol Cell Biol. –2007. - Vol. 40. P. 444-450.
167. Zhang, H. New type of antidiabetic compounds from the processed leaves of *Hydrangea macrophylla* var. *thunbergii* (*Hydrangeae Dulcis Folium*) / H. Zhang, H. Matsuda, A. Kumahara, Y. Ito, S. Nakamura, M. Yoshikawa // Bioorg. Med. Chem. Lett. – 2007. – Vol. 17. – P. 4972-4976.
168. Zhang, M.H. Integrative taxonomy of the *Selaginella helvetica* group based on morphological, molecular and ecological data / M.H. Zhang, R. Wei, Q.P. Xiang, A. Ebihara, X.C. Zhang // Taxon. – 2021. – Vol. 70. – P. 1163-1187.
169. Zonneveld, B.J.M. Genome size in *Hydrangea*. In: Encyclopedia of hydrangeas / B.J.M. Zonneveld. - Portland: Timber Press, 2004. – P. 245-250.
170. Сокольский, И. Роскошная гортензия / И. Сокольский // Наука и жизнь. 2006. -№11. [Электронный ресурс]. Режим доступа:<https://www.nkj.ru/archive/articles/8119/> (Дата обращения: 01.05.2024)

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение А

Подбор субстрата для адаптации растений гортензии с использованием гидропонной установкой

Приложение А 1- Рабочие растворы для приготовления баковой смеси гидропонной установки

Раствор А		Раствор Б	
Вещество	Количество, г	Вещество	Количество, г
K ₂ SO ₄	125	Ca(NO ₃) ₂	300
KH ₂ PO ₄	250	K ₂ O	1,5
NH ₄ NO ₃	75	Аквамикс	20
KNO ₃	125	Железо 13%	12
Mg(NO ₃) ₂	250	Железо 6%	10
MgSO ₄	250	Хелат марганца	8

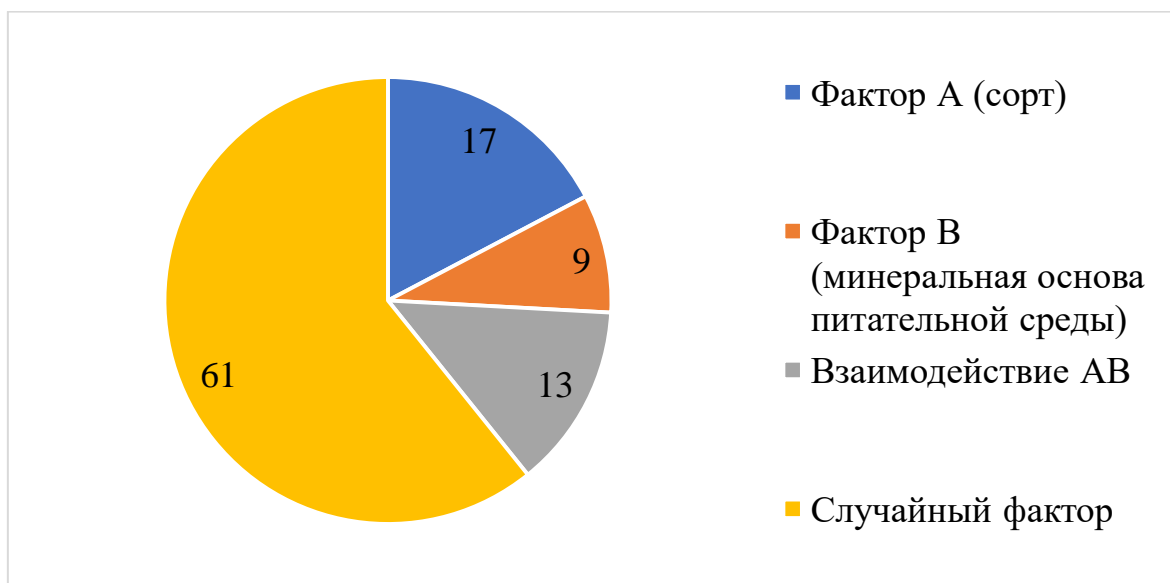
Приложение Б

Подбор оптимального минерального состава питательной среды на этапе собственно микроразмножения

Приложение Б 1- Результаты дисперсионного анализа данных об изменчивости коэффициента размножения представителей рода *Hydrangea* L. в зависимости от фактора А (сорт), фактора В (минеральная основа питательной среды) и взаимодействия факторов

Источник вариации	SS	df	ms	σ^2	F	F ₀₅	F ₀₁	p ^{ino} %	HCP ₀₅
Общая	1049,7	359		2,5					
Фактор А (сорт)	136,2	5	27,2	0,4	18,1	2,2	3,0	17	0,63
Фактор В (минеральная основа питательной среды)	309,9	3	20,7	0,2	13,7	2,6	3,8	9	0,47
Взаимодействие АВ	97,2	15	6,5	0,3	4,3	1,7	2,0	13	1,59
Случайная	506,5	336	1,5	1,5					

Приложение Б 2- Круговая диаграмма долей влияния фактора А (сорт), фактора В (минеральная основа питательной среды) и взаимодействие факторов на коэффициент размножения представителей рода *Hydrangea* L.



Приложение В

Выявление оптимальной концентрации цитокинина 6-БАП

Приложение В 1- Результаты дисперсионного анализа данных об изменчивости коэффициента размножения представителей рода *Hydrangea* L. в зависимости от фактора А (сорт), фактора В (концентрация 6-БАП) и взаимодействия факторов

Источник вариации	SS	df	ms	σ^2	F	F ₀₅	F ₀₁	p ⁱⁿ %	HCP ₀₅
Общая	4241,7	659		512,7				100	
Фактор А (сорт)	1064,4	10	106,4	201,3	22,2	1,83	2,3	42	1,3
Фактор В (концентрация 6-БАП)	86,4	4	21,6	105,4	4,5	2,6	3,78	22	0,8
Взаимодействие АВ	138,9	10	13,9	201,3	2,9	1,5	1,7	35	3
Случайная	2951,9	616	4,8	4,8				1	

Приложение В 2- Результаты дисперсионного анализа данных об изменчивости высоты микропобегов представителей рода *Hydrangea* L. в зависимости от фактора А (сорт), фактора В (концентрация 6-БАП) и взаимодействия факторов

Источник вариации	SS	df	ms	σ^2	F	F ₀₅	F ₀₁	p ⁱⁿ %	HCP ₀₅
Общая	805,8	659						100	
Фактор А (сорт)	438,3	10	43,8	0,7	7,8	1,83	2,3	37	0,3
Фактор В (подвой)	169,4	4	42,3	0,	10,2	2,6	3,78	13	0,2
Взаимодействие АВ	40,8	10	4,0	0,7	3,4	1,46	1,7	37	0,7
Случайная	157,2	616	0,2	0,2				13	

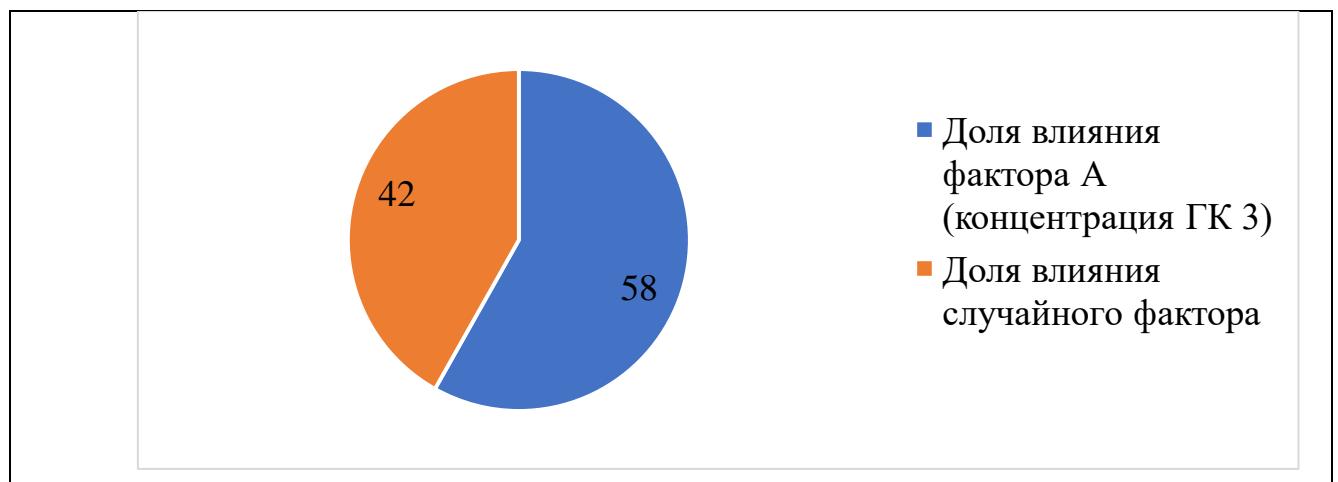
Приложение Г

Подбор оптимальной концентрации гибберелловой кислоты

Приложение Г 1- Результаты дисперсионного анализа данных об изменчивости коэффициента размножения *H. macrophylla* 'Peppermint' в зависимости от концентрации ГК 3 в питательной среде

Источник вариации	SS	df	ms	σ^2	F	F ₀₅	F ₀₁	p ^{in%}	HCP ₀₅
Общая	1294,5	89		17,9				100	
Фактор А (концентрация ГК 3)	641,4	2	320,7	10,4	42,72	3,1	4,9	58	1,70
Случайная	653,1	87	7,5	7,5				42	

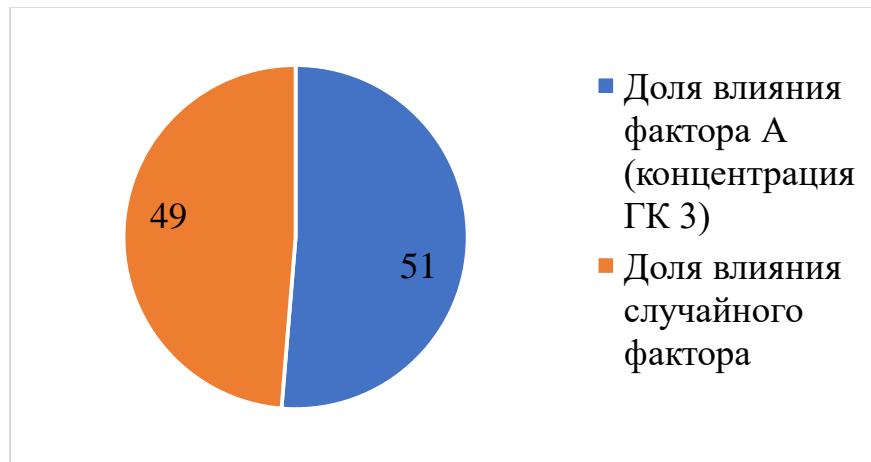
Приложение Г 2- Круговая диаграмма долей влияния фактора А (концентрация ГК 3) и случайного фактора на коэффициент размножения *H. macrophylla* 'Peppermint'



Приложение Г 3- Результаты дисперсионного анализа данных об изменчивости коэффициента размножения *H. paniculata* 'Magical Candle' в зависимости от концентрации ГК 3 в питательной среде

Источник вариации	SS	df	ms	σ^2	F	F ₀₅	F ₀₁	p ^{in%}	HCP ₀₅
Общая	1389,6	89		18,7				100	
Фактор А (концентрация ГК 3)	595,4	2	297,7	9,6	32,61	3,15	4,98	51	1,88
Случайная	794,2	87	9,1	9,1				49	

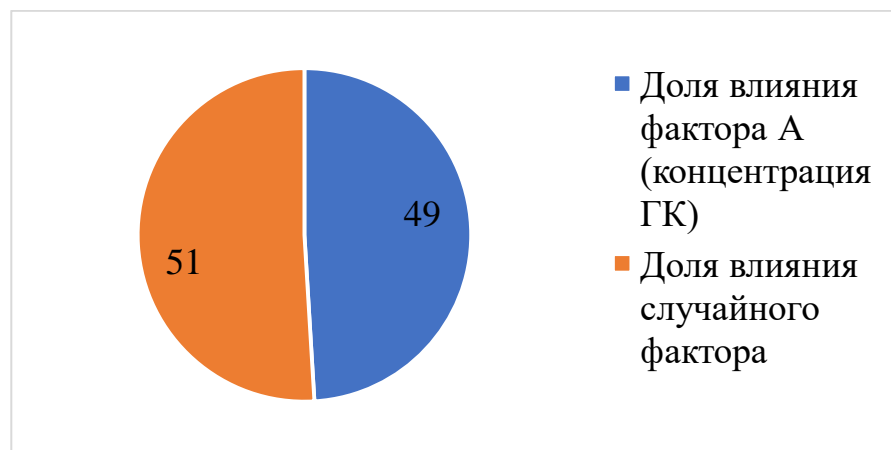
Приложение Г 4- Круговая диаграмма долей влияния фактора А (концентрация ГК 3) и случайного фактора на коэффициент размножения *H. paniculata* 'Magical Candle'



Приложение Г 5- Результаты дисперсионного анализа данных об изменчивости высоты микропобегов *H. paniculata* 'Magical Candle' в зависимости от концентрации ГК 3 в питательной среде

Источник вариации	SS	df	ms	σ^2	F	F ₀₅	F ₀₁	p ⁱⁿ %	HCP ₀₅
Общая	62,1	89		0,8				100	
Фактор А (концентрация ГК 3)	25,3	2	12,6	0,4	29,87	3	4,61	49	0,39
Случайная	36,8	87	0,4	0,4				51	

Приложение Г 6- Круговая диаграмма долей влияния фактора А (концентрация ГК 3) и случайного фактора на высоту микропобегов *H. paniculata* 'Magical Candle'



Приложение Г 7- Результаты дисперсионного анализа данных об изменчивости высоты микропобегов *H. macrophylla* 'Peppermint' в зависимости от концентрации ГК 3 в питательной среде

Источник вариации	SS	df	ms	σ^2	F	F ₀₅	F ₀₁	p ⁱⁿ %	НСР ₀₅
Общая	24,8	89		-				-	
Фактор А (концентрация ГК 3)	0,3	2	0,1	-	0,45	3,15	4,9	-	-
Случайная	24,5	87	0,3	-				-	

$F_a < F_{05}$ и $F_a < F_{01}$, фактора А не влияет на высоту микропобегов

Приложение Д

Изучение морфогенетического потенциала представителей рода *Hydrangea*

L. при применении различных источников углеводного питания

Приложение Д 1- Результаты дисперсионного анализа данных об изменчивости коэффициента размножения представителей рода *Hydrangea* L. в зависимости от фактора А (вид), фактора В (источник углеводного питания) и взаимодействия факторов

Источник вариации	SS	df	ms	σ^2	F	F ₀₅	F ₀₁	p ^{in%}	НСР ₀₅
Общая	42,7	44		1,4				100	
Фактор А (вид)	2,8	2	1,4	0,1	6,4	3,3	5,4	4	0,34
Фактор В (источник углевода)	24,9	2	12,5	0,8	58,1	3,3	5,4	58	0,42
Взаимодействие АВ	7,3	4	1,8	0,3	8,5	2,7	4,0	23	0,95
Случайная	7,7	36	0,2	0,2				15	

Приложение Е

Экономическая эффективность адаптации посадочного материала,
выращенного способом клонального микроразмножения представителей рода
Hydrangea l.

Приложение Е 1- Технические требования к микрочеренкам, укорененным *in vitro*

ГОСТ Р 54051—2010

Таблица 2 — Технические требования к микрочеренкам плодовых и ягодных культур, укорененным *in vitro* (микрорастениям)

Наименование показателей	Характеристика и нормы по культурам			
	Плодовые культуры		Ягодные кустарники	Земляника
	семечковые	косточковые		
Внешний вид	Микрочеренки должны иметь интенсивно-зеленую окраску листьев без признаков хлороза, пестролистности и других аномалий, диаметр каллуса у основания побегов не должен превышать 2—4 мм			
Длина побегов, мм, не менее	20	20	20	15*
Число нормально развитых листьев, шт., не менее	5	5	5	3
Средняя длина корней, мм, не менее	15	15	15	10
Количество корней, шт., не менее	2	2	2	3
* Высота розеток земляники.				
Примечание — Питательная среда, на которой культивируют укорененные <i>in vitro</i> микрочеренки, должна быть без колоний микроорганизмов и не иметь признаков иссушения, расслоения или растрескивания.				