



Никитский ботанический сад – Национальный научный центр (НБС-ННЦ)



Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина Российской академии наук



Государственное бюджетное учреждение «Волгоградский региональный ботанический сад»



Государственное научное учреждение «Центральный ботанический сад» Национальной академии наук Беларуси

Материалы

VI Международной научно-практической конференции
«Биотехнология как инструмент сохранения
биоразнообразия растительного мира
(физиолого-биохимические, эмбриологические,
генетические и правовые аспекты)»
г. Ялта, Республика Крым, Россия
12 – 17 октября 2014 г.

Симферополь
ИТ «АРИАЛ»
2014

СОЗДАНИЕ КОЛЛЕКЦИИ *IN VITRO* СЕЛЕКЦИОННО-ОТОБРАННЫХ ФОРМ ТОПОЛЯ

Л.А. Богинская

ГНУ «Институт леса НАН Беларуси»

Беларусь, г. Гомель, e-mail: lpochta@mail.ru

В 60-х гг. в природно-климатических условиях Беларуси было начато сортоиспытание тополя с использованием материала полученного из географических областей бывшего СССР и Западной Европы. На современном этапе исследований в 50-летних сортоиспытательных культурах нами были отобраны формы различных видов и гибридов тополя, характеризующиеся высокой сохранностью (75% и выше). Внутри форм были выделены маточные деревья с наибольшими показателями высот и диаметров стволов. Для введения в культуру *in vitro* с деревьев был взят вегетативный материал – ветки диаметром 1-3 см. Источником эксплантов были ювенильные зеленые побеги, развившиеся из спящих почек на фрагментах толстых ветвей в ходе выгонки в лабораторных условиях. На одном фрагменте ветви развивались 2-3 конгломерата из 3-10 удлиненных побегов (до 6 см в длину) с хорошо развитыми междоузлиями. Схема стерилизации эксплантов – 1-2х узловых фрагментов зеленых побегов: мытье мягкой кистью в растворе хозяйственного мыла или жидкого средства для посуды, промывание в воде, обработка 3–4% раствором перекиси водорода 10 мин.; основная стерилизация – 1 мин. 70% этанолом, 3–4 мин. 0,1% раствором сулемы. Введение в культуру проводили путем стимуляции развития пазушных побегов на питательной среде $\frac{1}{2}$ МС с 0,5 мг/л БАП, 0,5 мг/л ИМК, 20 г/л сахарозы, рН 5,6-5,9 при интенсивности освещения 2-3 тыс. лк лампами типа ЛДЦ-40. Развившиеся первичные побеги отделяли от эксплантов и высаживали на среду для укоренения WPM с 0,1 мг/л НУК.

Поддержание клонов в коллекции *in vitro* проводится за счет побегов, развивающихся из пазушных и верхушечных меристем на средах с низкой концентрацией цитокининов и ауксинов (WPM 0,1 мг/л кинетина, 0,1 мг/л НУК, 10 мг/л аденина) для снижения вероятности проявления соматоклональной изменчивости. Для ювенилизации растений *in vitro* применяется также импульсная стимуляция (2-3 раза в год) веществами цитокининового и ауксинового типа действия на средах: $\frac{1}{2}$ МС 0,1 мг/л БАП, 30 мг/л аденина или $\frac{1}{2}$ МС 0,1 мг/л БАП, 0,1 мг/л ИМК, 0,1 мг/л НУК. Регулярное применение указанных сред вызывает нежелательное каллусообразование и развитие витрифицированных адвентивных побегов.

Коллекция тополя *in vitro* включает более 30 клонов, относящихся к таким видам и гибридам, как тополь китайский (*P. simonii*), *P. trichocarpa* 'Lettland', т. Петровского, или берлинский (*P. ×petrowskiana*, или *P. berolinensis*), т. корейский (*P. koreana*), т. Максимовича (*P. maximoviezii*), осина х т. бальзамический (*P. tremula × P. balsamifera*), а также клоны т. канадского (*P. deltoides*).

Коллекция селекционно-отобранных клонов тополя *in vitro* используется для получения посадочного материала используемого для закладки лесосырьевых плантаций.

THE ESTABLISHMENT OF *IN VITRO* COLLECTION OF SELECTED FORMS OF POPLAR

Liudmila A. Boginskaya

Forest Institute of the National Academy of Sciences of Belarus, Genetics and Biotechnology Laboratory

Belarus, Gomel, e-mail: *lpochta@mail.ru*

The forms of genus *Populus* that held the greatest promise for incorporation into *in vitro* genotype collection were selected on variety-testing sites established way back in the 1960s, local selection material and material brought from various geographic regions of the former USSR and Western Europe being used. High value of the form safety (75% and more), the highest means of tree height and trunk diameter among trees of the form characterize maternal trees selected for *in vitro* culture establishment.

Old branches, 1-4 cm thick collected from the crown and cut in 25-30 cm. Juvenile shoots forced from the dormant buds on the thick branches in laboratory conditions were the source of explants. The development of epicormic shoots takes 1-5 weeks in growth room with a temperature 18–23°C. As a rule two-three conglomerates consisting of 3-10 shoots with elongated internodes appear in one branch. Scheme of sterilization of one-two intermodal explants: clearing of pollution by water with detergents, sterilization with 3-4% solution of hydrogen peroxide during 10 min.; sterilization in laminar-box – 1 min. with 70% ethanol, 4 min. with 0.1% mercury chloride. For establishment of aseptic culture development of axillary shoots from explants were stimulated on the medium ½ MC 0.5 mg·l⁻¹ BAP, 0.5 mg·l⁻¹ IBA, 20 g·l⁻¹ sucrose, pH 5.6-5.9. Primary shoots were cut from explants and placed on the rooting medium WPM 0.1 mg·l⁻¹ NAA.

For purposes of reduction of somaclonal variability the collection is maintained by shoots developed from the axillary and apical meristems on the medium with low cytokine concentration (WPM 0.1 mg·l⁻¹ kinetin, 0.1 mg·l⁻¹ NAA, 10 mg·l⁻¹ adenin). For juvenilisation of *in vitro* plants pulse stimulation (two-three times a year) by cytokines is used: ½ MC 0.1 mg·l⁻¹ BAP, 30 mg·l⁻¹ adenin or ½ MC 0.1 mg·l⁻¹ BAP, 0.1 mg·l⁻¹ IBA, 0.1 mg·l⁻¹ NAA. Regular application of mentioned medium causes undesirable callus and vitrified adventive buds formation.

The *in vitro* collection comprised more than thirty clones of such species and hybrids as *Populus simonii* Carr., *P. koreana* Rehd., *P. trichocarpa* 'Lettland', *P. ×petrowskiana* Shroed. ex Regel or *P. berolinensis* C. Koch, *P. maximoviezii* Henry, *P. tremula* × *P. balsamifera* and clones of *P. deltoides* Bartl. ex Marsh.

For purposes of forest planting stock production for plantation establishment the *in vitro* collection of selected poplar forms is currently being used.