

УДК 631.52

Изучение влияния росторегулирующих веществ различной природы при клональном микроразмножении осины

С. С. Макаров – Центрально-европейская лесная опытная станция, филиал Всероссийского научно-исследовательского института лесоводства и механизации лесного хозяйства, старший научный сотрудник, ученый агроном, Кострома, Российская Федерация, seregabenzol@yandex.ru

А. А. Панкратова – Костромская государственная сельскохозяйственная академия, доцент кафедры агрохимии, почвоведения и защиты растений, кандидат сельскохозяйственных наук, поселок Каравеево, Костромская область, Российская Федерация, pancratova.anna@yandex.ru

Приведены результаты влияния различных росторегулирующих веществ на процессы укоренения и роста микропобегов триплоидной (гигантской) осины клона № 35 в условиях *in vitro*. Показана возможность использования Эпин-Экстра для элонгации микропобегов в качестве модифицирующего элемента технологии клонального микроразмножения.

Ключевые слова: лесные культуры, осина, регуляторы роста, микрклональное размножение, *in vitro*.

Для ссылок:

Макаров, С. С. Изучение влияния росторегулирующих веществ различной природы при клональном микроразмножении осины [Электронный ресурс] / С. С. Макаров, А. А. Панкратова // Лесохоз. информ. : электрон. сетевой журн. – 2016. – № 3. – С. 138–143. URL: <http://lhi.vniilm.ru/>

Для удовлетворения потребности общества в древесине и продуктах ее переработки необходимо повышать продуктивность существующих и создавать новые высокопродуктивные лесные насаждения. Повысить продуктивность леса можно за счет ускоренного масштабного размножения и выращивания быстрорастущих древесных пород, к которым относится осина (*Populus tremula* L.)

Впервые исполинские триплоидные клоны осины (*P. tremula gigas*) в России были отобраны академиком А. С. Яблоковым в 1938 г. в Шарьинском лесхозе Костромской обл. на концентрированных вырубках. В 1962–1963 гг. клоны селекции А. С. Яблокова были восстановлены Костромской ЛОС ВНИИЛМ, и С. Н. Багаевым отобрано 5 новых быстрорастущих форм осины, в том числе триплоидный клон № 35 [1–3]. Выращивание осины данной формы на плантациях очень перспективно.

В 2014–2015 гг. в лаборатории клонального микроразмножения Центрально-европейской лесной опытной станции проведены исследования, направленные на усовершенствование технологии клонального микроразмножения триплоидной (гигантской) осины (*Populus tremula gigas*) клона № 35 с применением росторегулирующих веществ различной природы.

Методы и объекты исследований. В практике клонального микроразмножения древесных растений применяется много разнообразных вариантов питательных сред, в том числе и для культивирования осины – MS, B5, NLN, WPM, McWP, Sh-2, MSm, A 22 m, Грессхофф и Доу, Уайта, Андерсена. В наших исследованиях для выращивания регенерантов осины из первичного экспланта применялась питательная среда Мурасиге и Скуга (MS) стандартного состава, модифицированная на различных этапах культивирования мериклонов осины регуляторами роста различной природы в разных концентрациях.

Схема проведения лабораторных опытов по изучению росторегулирующих веществ включала 3 этапа: элонгация, собственно микроразмножение, укоренение размноженных растений-ре-

генерантов осины в условиях *in vitro*. На каждом этапе исследований культивирование растений осуществлялось на 2-х вариантах питательной среды. Все исследования проводили в соответствии с общепринятыми методиками [4–7].

На 1-м этапе (элонгация) дорастивание растений-регенерантов осуществляли в 2-х вариантах питательной среды – безгормональной питательной среде MS (1-й вариант) и на среде MS, дополненной синтетическим регулятором роста Эпин-Экстра (24-эпибрасинолид) в концентрации 0,5 мг/л среды (2-й вариант).

На 2-м этапе (собственно микроразмножение) для культивирования применялась питательная среда MS, содержащая, для дополнительного побегообразования, цитокинин 6-БАП (6-бензилоаминопурин) в 2-х вариантах концентрации – 0,5 мг/л среды (1-й вариант) и 1,0 мг/л (2-й вариант).

На 3-м этапе (укоренение размноженных растений-регенерантов) применялась питательная среда MS аналогичного состава, но содержащая в качестве индуктора ризогенеза ауксин ИМК (индолил-3-масляную кислоту) в двух вариантах концентрации – 0,5 мг/л среды (1-й вариант) и 1,0 мг/л (2-й вариант).

Результаты исследований. Анализируя основную биометрический показатель развития растений осины *in vitro*, отмечено, что введение в состав питательной среды регулятора роста Эпин-Экстра способствовало увеличению высоты растений и в 2014, и в 2015 г. В среднем разница между опытными вариантами по высоте растений составляла: на 7-е сут прохождения этапа субкультивирования – 0,5 см, на 21-е сут – 0,7 см (табл. 1). Дисперсионный анализ подтверждает достоверность полученных в опыте результатов.

На этапе «собственно микроразмножение» было установлено, что повышение концентрации 6-БАП до 1,0 мг/л среды не способствовало улучшению прироста растений в высоту. На среде MS с концентрацией 6-БАП 0,5 мг/л высота микропобегов осины была в среднем на 1,7–2,0 см больше (табл. 2).

Количество растений, получаемых в лабораторных условиях, напрямую зависит от коэффи-

Таблица 1. Высота побегов осины на этапе элонгации, см

Дата учета (сутки)	Высота побегов осины, см					
	2014 г.			2015 г.		
	MS (безгормональная среда)	MS+Эпин	Разница	MS (безгормональная среда)	MS+Эпин	Разница
7 сут	1,25	1,83	+0,58	1,39	1,94	+0,55
21 сут	1,47	2,2	+0,73	1,92	2,58	+0,66
НСР ₀₅	0,29			0,20		

Примечание. НСР₀₅ – наименьшая существенная разница на 0,5%-м уровне значимости между вариантами

Таблица 2. Высота микропобегов осины на этапе «собственно микроразмножение» (среднее), см

Вариант питательной среды MS (концентрация 6-БАП)	Высота микропобегов осины, см			
	2014 г.	Разница	2015 г.	Разница
1 вариант (0,5 мг/л)	3,46	+1,66	3,24	+1,98
2 вариант (1,0 мг/л)	1,80		1,26	
НСР ₀₅	1,10		1,23	

Таблица 3. Количество микропобегов осины, шт.

Вариант питательной среды MS (концентрация 6-БАП)	Количество микропобегов осины, шт.			
	2014 г.	Разница	2015 г.	Разница
1 вариант (0,5 мг/л)	2,80	+1,13	2,50	+0,36
2 вариант (1,0 мг/л)	1,67		2,14	
НСР ₀₅	1,33		1,61	

циента размножения, который определяет число полученных дополнительных растений-регенерантов от одного исходного материнского или донорского растения. На данном этапе (собственно микроразмножение) при повышении концентрации 6-БАП до 1,0 мг/л количество размноженных растений-регенерантов осины не увеличилось (разница между вариантами была ниже НСР₀₅). Невысокий коэффициент размножения (табл. 3) объясняется тем, что растения на среде MS с добавлением 6-БАП 1,0 мг/л имели небольшой размер междоузлий.

Таким образом, повышение содержания цитокинина в составе питательной среды не оказало положительного влияния как на прирост растений в высоту, так и на увеличение коэффициента размножения культуры.

На этапе укоренения *in vitro* размноженных растений-регенерантов измеряли длину корневой системы, формируемой в среднем каждым растением. Анализ результатов показывает, что увеличение концентрации ауксина ИМК в составе питательной среды до 1,0 мг/л не способствовало формированию более развитой корневой системы (табл. 4). Длина корней растений, культивируемых на питательной среде с добавлением ИМК 0,5 мг/л среды, превышает значение аналогичных показателей при концентрации ИМК 1,0 мг/л в среднем на 1 см (табл. 4).

В результате исследований установлено:

1. При культивировании осины внесение регулятора роста Эпин-Экстра (в концентрации 0,5 мг/л) в состав питательной среды на этапе

Таблица 4. Длина корней микропобегов осины (среднее), см

Вариант питательной среды MS (концентрация ИМК)	Длина корней микропобегов осины, см			
	2014 г.	Разница	2015 г.	Разница
1 вариант (0,5 мг/л)	2,0	0,83	2,23	1,06
2 вариант (1,0 мг/л)	1,17		1,17	
НСР ₀₅	0,76		0,47	

элонгации (доразрастание микропобегов в высоту), может рассматриваться как модифицирующий элемент технологии, способствующий более интенсивному росту растений.

2. На этапе «собственно микроразмножение» повышение концентрации цитокинина (6-БАП) не способствовало увеличению основных показателей развития культуры: высоты микропобегов и коэффициента размножения растений. На данном этапе технологической цепочки необходимо изучить в качестве модифицирующего элемента технологии совместное использование в составе питательной среды цитокинина 6-БАП и регулятора роста Эпин-Экстра. Согласно литературным источникам, на этапе микроразмножения растений регулятор роста Эпин-Экстра способен оказывать положи-

тельное влияние на рост и развитие многих видов растений.

3. На этапе укоренения *in vitro* размноженных растений-регенерантов осины увеличение концентрации ауксина (ИМК) не оказало положительного влияния на формирование более развитой корневой системы растений осины, пригодной для успешного прохождения последующего этапа – адаптации растений к нестерильным условиям почвенного субстрата *in vivo*.

Таким образом, применение нестандартного для биотехнологии регулятора роста растений – Эпин-Экстра, обладающего массой полезных свойств для более полного раскрытия потенциала растений, может рассматриваться как модифицирующий элемент технологии клонального микроразмножения осины триплоидной.

Список использованной литературы

1. Багаев, С. Н. Генетический резерват осины исполинской / С. Н. Багаев, Е. С. Багаев // Лесн. хоз-во. – 1990. – № 4. – С. 45–48.
2. Багаев, Е. С. Генетический резерват осины исполинской в Костромской обл. / Е. С. Багаев // Лесохоз. информ. – 2008. – № 10–11. – С. 36–38.
3. Жигунов, А. В. Лесные плантации триплоидной осины, созданные посадочным материалом *in vitro* / А. В. Жигунов // Вестник Поволжского гос. технолог. ун-та. Сер.: Лес. Экология. Природопользование. – 2014. – № 4 (24). – С. 21–30.
4. Калашникова, Е.А. Практикум по сельскохозяйственной биотехнологии / Е. А. Калашникова, Е. З. Кочиева, О. Ю. Миронова. – М. : КолосС, 2006. – 144 с.
5. Сельскохозяйственная биотехнология : учеб. / В. С. Шевелуха, Е. А. Калашникова, С. В. Дегтярев [и др.]. – М. : Высш. шк., 1998. – 416 с.
6. Основы биотехнологии растений. Культура клеток и тканей: учеб. пособ. / Составители: И. К. Сорокина, Н. И. Старичкова, Т. Б. Решетникова, Н. А. Гринь. – Саратов : СГУ, 2002. – 34 с.
7. Бутенко, Р. Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе / Р. Г. Бутенко. – М. : ФБК – ПРЕСС, 1999. – 160 с.
8. Шаповал, О. А. Перспективы использования регуляторов роста растения / О. А. Шаповал, В. В. Вакуленко, И. Л. Можарова // Плодородие. – 2006. – № 6. – С. 13–14.

References

1. Bagaev, S. N. Geneticheskij rezervat osiny ispolinskoj / S. N. Bagaev, E. S. Bagaev // Lesn. hoz-vo. – 1990. – № 4. – S. 45–48.
2. Bagaev, E. S. Geneticheskij rezervat osiny ispolinskoj v Kostromskoj obl. / E. S. Bagaev // Lesohoz. inform. - 2008. – № 10-11. – S. 36–38.
3. Zhigunov, A. V. Lesnye plantacii triploidnoj osiny, sozdannye posadochnym materialom *in vitro* / A. V. Zhigunov // Vestnik Povolzhskogo gosudarstvennogo tekhnologicheskogo universiteta. Ser.: Les. Ekhologiya. Prirodopol'zovanie. – 2014. – № 4 (24). – S. 21–30.
4. Kalashnikova, E.A. Praktikum po sel'skohozyajstvennoj biotekhnologii / E. A. Kalashnikova, E. Z. Kochieva, O. Yu. Mironova. – M. : KolosS, 2006. – 144 s.
5. Sel'skohozyajstvennaya biotekhnologiya : ucheb. / V. S. Sheveluha, E. A. Kalashnikova, S. V. Degtyarev [i dr.]. – M.: Vyssh. shk., 1998. – 416 s.
6. Osnovy biotekhnologii rastenij. Kul'tura kletok i tkanej: ucheb. posobie / Sostaviteli: I. K. Sorokina, N. I. Starichkova, T. B. Reshetnikova, N. A. Grin'. – Saratov : SGU, 2002. – 34 s.
7. Butenko, R. G. Biologiya kletok vysshih rastenij *in vitro* i biotekhnologii na ih osnove / R. G. Butenko. – M. : FBK – PRESS, 1999. – 160 s.
8. Shapoval, O. A. Perspektivy ispol'zovaniya reguljatorov rosta rasteniya / O. A. Shapoval, V. V. Vakulenko, I. L. Mozharova // Plodorodie. – 2006. – № 6. – S. 13–14.

Study of the effect of growth regulating substances of different nature in the clonal micropropagation of aspen

S. S. Makarov – Central European forest experiment station, branch Russian Research Institute for Silviculture and Mechanization of Forestry, Senior researcher, agronomist, Kostroma, Russian Federation, seregabenzol@yandex.ru

A. A. Pankratova – Kostroma state agricultural Academy, Associate Professor of Department of Agrochemistry, soil science and plant protection, Candidate of Agricultural Sciences, settlement Karavaevo, Kostroma region, Russian Federation, pankratova.anna@yandex.ru

Key words: forest plantations, aspen, growth regulators, clonal micropropagation, in vitro.

The used plant material, which has unique economic-valuable properties – triploid (giant) aspen (*Populus tremula gigas*) in vivo grown only in the territory of the Kostroma region (clone № 35). In 2014 and early 2015 in the laboratory of micropropagation in the Branch FBU VNIILM «Central European forest experiment station» studies have been conducted to improve the technology of clonal micropropagation of triploid (giant) aspen (*Populus tremula gigas*) clone No. 35 with the use of growth regulating substances of different nature. The studies found that the use of non-biotechnology plant growth regulators such as EPIN-Ekstra, has a lot of useful properties for a more complete disclosure of potential plants can be considered as a modifying element of the technology of clonal micropropagation of triploid aspen. Application of EPIN in a concentration of 0.5 mg/l of the nutrient medium at the stage of elongation of the plants has a positive effect on the increase in plant growth in height. Application of standard for biotechnology growth regulating substances (cytokinins 6-BAP and the auxin IBA) at a concentration of 1.0 mg/l not favor the formation of high values of indicators of cultural development – the heights of the plants, the multiplication factor of culture.