

УДК: 581.412:633.877

Р.М. Турпанова, Д.Я. Исхакова\*, Ж.М. Джармуханов, А.М. Гаджимурадова  
Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева МОН РК, г. Астана, Казахстан,  
\*e-mail: dina.iskhakova@mail.ru

### **Использование тканей и органов взрослых растений хвойных пород для размножения in vitro**

В нашей работе были сделаны попытки изучить способность к размножению тканей взрослых растений сосны обыкновенной и ели обыкновенной in vitro в зависимости от возраста первичного экспланта и условий его культивирования.

**Ключевые слова:** микроклональное размножение, морфогенез, хвойные растения, сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris* L.), ель обыкновенная (*Picea abies* L.).

Р.М. Турпанова, Д.Я. Исхакова, Ж.М. Джармуханов, А.М. Гаджимурадова

### **Қылқан ағаштың in vitro өрбітуіне қолдануға арналған ұлпалары мен тұқымдары**

Біздің жұмысымызда бастапқы экспланттың жасы мен өсіру жағдайына байланысты, кәдімгі қарағай мен шырша ұлпаларының in vitro өрбітуі қабілеттілігін байқадық.

**Түйін сөздер:** микроклоналдық өрбіту, морфогенез, қылқан өсімдіктер, кәдімгі қарағай, кәдімгі шырша.

R.M. Turpanova, D. Iskhakova, Zh. Djarmuhanov, A.M. Gadjimuradova

### **Use of fabrics and bodies of adult plants of coniferous breeds for in vitro manifolding**

In our work attempts to study ability to manifolding of fabrics of adult plants of a pine ordinary were made and ate with ordinary in vitro depending on age of primary eksplant and conditions of his cultivation.

**Keywords:** microclonal manifolding, morphogenesis, coniferous plants, pine ordinary (*Pinus sylvestris* L.), fir-tree ordinary (*Picea abies* L.).

Методы культуры тканей растений in vitro находят все большее применение в фундаментальных и прикладных исследованиях в области физиологии, генетики, эмбриологии и целом в биологии развития растений.

Культура тканей хвойных растений in vitro может играть важную роль в генетико-селекционных программах лесовосстановления древесных видов, так как репродуктивный потенциал этих видов снижается [1].

Однако, в исследованиях, которые проводятся с культурами органов, тканей и клеток растений in vitro одной из наиболее актуальных проблем является индукция морфогенеза. Особенно остро эта проблема стоит у хвойных растений, поскольку известно, что морфогенетические процессы в условиях in vitro индуцируются у них с большим трудом, характеризуются нестабильностью и трудной воспроизводимостью [2].

В Республике Казахстан работы по клональному микроразмножению посадочного материала хвойных культур малочисленны.

### **Материалы и методы**

Объектами исследований являлись представители семейства Pinaceae: сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris* L.) и ель обыкновенная (*Picea abies* L.), произрастающие в естественных древостоях и в искусственных насаждениях.

В качестве эксплантов, для введения в культуру in vitro были использованы верхушечные и боковые почки, изолированные в период покоя с 2-, 5- и 10-летних растений (январь-апрель), и молодые побеги в период вегетации (май-конец июня), а также сегменты стеблей с хвоей и без нее, срезанных с ветвей в средней части ствола.

В основе исследования была использована методика для размножения древесных и кустарниковых пород в условиях in vitro, разработанная Калашниковой Е.А. [3].

### **Результаты и их обсуждения**

В нашей работе были сделаны попытки изучить способность к размножению тканей взрослых растений сосны обыкновенной и ели

обыкновенной *in vitro* в зависимости от возраста первичного экспланта и условий его культивирования.

Почки взрослых деревьев имели слабый морфогенный потенциал. Максимальное количество образовавшихся адвентивных почек зарегистрировано для почек, взятых с деревьев сосны, и составило в среднем (10%, 2,5% соответственно).

Наибольшее число почек *de novo* образовалось на зрелых зародышах сосны после индукции на среде с 6-БАП в течение четырех недель. При концентрации БАП 13,33 мкМ в 18% случаев происходило формирование 6-7 нормальных по морфологии адвентивных почек на один зародыш.

**Таблица 1** - Влияние возраста первичного экспланта на морфогенетический потенциал сосны обыкновенной *in vitro* на среде ГД (наблюдение через 3 месяца после посадки)

Эксплант	Число эксплантов, %		Среднее количество почек на 1 эксплант, шт
	живых	образующих адвентивные почки	
Почки, изолированные с 2-летних семян	50,0 ± 2,8	10,0 ± 0,6	2,5 ± 0,5
Почки, изолированные с 5-летних саженцев	20,0 ± 1,0	2,5 ± 0,1	1,5 ± 0,5
Почки, изолированные с 10-летних деревьев	0	0	0

**Таблица 2** - Влияние концентраций БАП на образование адвентивных почек при культивировании зародышей сосны обыкновенной в условиях *in vitro*

Концентрация, мкМ (мг/л)	Число зародышей, %		Среднее число почек на 1 зародыш, шт
	Имеющие зеленые семядоли	Образующих адвентивные почки	
0,44 (0,1)	98,0 ± 8,33	3,4 ± 0,24	1,2 ± 0,07
4,44 (1,0)	100	12,0 ± 0,88	5,0 ± 0,24
13,33 (3,0)	97,2 ± 4,76	18,0 ± 1,30	6,7 ± 0,41
22,20 (5,0)	65,8 ± 6,52	15,4 ± 1,38	7,5 ± 0,15
44,44 (10,0)	51,4 ± 3,08	8,8 ± 0,44	8,0 ± 0,36
88,88 (20,0)	17,5 ± 1,55	7,5 ± 0,36	8,0 ± 0,24

Увеличение концентрации БАП от 22,22 до 88,88 мкМ приводило к снижению жизнеспособности зародышей с одновременным уменьшением процента зародышей, способных образовывать адвентивные почки. Хотя в этих вариантах среднее число почек на один эксплант достигало самого высокого показателя (7,5-8,0 шт.). У ели на зрелых зародышах адвентивные почки индуцировали на среде с зеатином в концентрации 9,10 мкМ (2 мг/л), однако количество образовавшихся адвентивных почек было невысоким и составляло всего 10%. Увеличение концентрации зеатина до 22,75 мкМ (5 мг/л) приводило к увеличению среднего числа почек, образовавшихся на одном

зародыше (8-9 шт.). При культивировании на той же самой среде в течение последующих 2 недель эти почки либо постепенно обрастали каллусом, либо наблюдалось образование некротических участков. Повышение концентрации ИУК в среде до 5,7 мкМ (1 мг/л) было не эффективно в увеличении числа зародышей, способных к прямой регенерации адвентивных почек.

Образование адвентивных почек на изолированной одиночной хвое проростков сосны было отмечено при культивировании их на модифицированной питательной среде ГД, содержащей БАП в концентрации 13,33 мкМ в сочетании с ИУК 2,85 мкМ. При этом в 42% случаев наблюдалась дифференциация

адвентивных почек непосредственно в тканях экспланта. Однако рост, сформировавшихся почек, был замедлен, и нам не удалось получить из них хорошо растущие побеги, способных к укоренению. В ходе изучения способности каллусных тканей ели к

регенерации на протяжении ряда субкультивирований на средах с сахарозой в низкой концентрации (0,5-1%) в 63,0 % случаев происходило образование адвентивных почек и дальнейшее их развитие в побеги.

**Таблица 3** – Влияние концентраций сахарозы на жизнеспособность каллусной ткани и образование адвентивных почек

N пассажа	Концентрация сахарозы, %			Жизнеспособность трансплантов, %			Образование адвентивных почек, %		
	1*	2*	3*	1	2	3	1	2	3
0	0,5	3	0,5	85,0	57,5	85,0	50,0	19,5	50,0
1	1	2	2	83,3	50,0	60,0	70,0	10,5	60,0
2	1	2	0,5	82,0	40,0	58,7	68,0	8,7	52,2
3	1	2	2	80,0	18,0	46,7	67,7	0	48,3
4	1	2	0,5	80,0	0	45,1	63,0	0	33,4

Примечание: \*1, 2, 3 – номера вариантов (по концентрации сахарозы)

Чередование низкой (0,5%) и высокой (2%) концентраций сахарозы позволило получить в 33,4% случаев образование адвентивных почек, которые развивались в побеги, способные к укоренению [4]. С повышением концентрации

сахарозы до (2-3%) образование адвентивных почек практически не происходило, и к четвертому пассажиру наблюдалась гибель всех эксплантов.

### Литература

- 1 Третьякова, И.Н. Семенная продуктивность макростробилов и качество семян у пихты сибирской в нарушенных лесных экосистемах гор Южной Сибири / И.Н. Третьякова, Е.В. Бажина // Экология. - 1996. - № 6. - С. 430-436.
- 2 Третьякова, И.Н. Сохранение генофондов хвойных видов Сибири при помощи соматического эмбриогенеза in vitro – современного метода биотехнологии / И.Н. Третьякова, И.Н. Барсукова // Хвойные бореальной зоны. - 2010. - XXVII. - № 1-2. – С. 203-205.
- 3 Калашникова Е.А., Родин А.Р. Получение посадочного материала древесных, цветочных и травянистых растений с использованием методов клеточной и геномной инженерии: учеб. пособие. Изд. 2, испр. и доп. М.: МГУЛ, 2001. 73 с.
- 4 Родина Е.А. Экспериментальный морфогенез в культуре тканей хвойных пород (*Pinus sylvestris* и *Picea abies*): автореф. дис. канд. биол. наук. М., 1989. 22 с.