

УДК 57.085

Табачкая Татьяна Михайловна¹, Аминова Елена Юрьевна¹, Машкина Ольга Сергеевна^{1,2}

**Биотехнологическая оценка коллекционного материала березы и тополя
в условиях солевого стресса в культуре *in vitro***

¹ФГБУ «Всероссийский НИИ лесной генетики, селекции и биотехнологии»;

²ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный университет»

e-mail: mashkinaos@mail.ru

Моделирование стресса в культуре *in vitro* – одно из перспективных направлений селекции растений на устойчивость к негативным факторам среды (засухе, засолению почв и др.). Это подтверждают примеры получения стрессоустойчивых растений сельскохозяйственных и плодово-ягодных культур на основе биотехнологического подхода [1, 2]. Разработка селективных систем *in vitro* для лесных древесных растений в настоящее время носит поисковый характер [3].

Ранее нами разработана биотест-система на основе каллусных культур *in vitro* для отбора засухоустойчивых форм сосны обыкновенной [4]. Это послужило основой к проведению работ по тканевой селекции лиственных древесных растений. Выбор березы и тополя определен их большим генетическим разнообразием, представленным разными микроклонами в коллекции долгосрочного хранения ФГБУ «ВНИИЛГИСбиотех» [5].

Цель данной работы – изучение ответной реакции березы и тополя на засоление NaCl в культуре *in vitro* для разработки селективных систем отбора устойчивых клонов. Засоление питательных сред NaCl позволяет моделировать как солевой, так и осмотический стресс.

Материалом для исследований служили микрорастения 16 клонов березы (*Betula pendula* L.; *B. Pendula* Roth var. *carelica* (Mercklin) Hämet-Ahti; *B. Pendula* f. *'dalecarlica'* (L.f.) Schneid.; *B. pubescens* Ehrh.) и тополя (*Populus* × *canescens* Sm.; *P. alba* L.) из коллекции длительного хранения. Экспланты – микрочеренки коллекционных микрорастений. Питательные среды для березы – ½ MS, для тополя – ½ WPM. Провокационный фон создавали добавлением в среду морской соли (NaCl, 99 %) в концентрациях 0,2–1,0 %. Режим культивирования: температура 25±2 °С, фотопериод – 16 ч, освещенность – 2,0 клк. Степень устойчивости культур определяли по их росту, сохранности (жизнеспособности), изменению морфологических признаков.

Экспериментально показано, что уже при кратковременном (20 суток) щадящем (0,2 %) режиме солевого стресса у березы проявились яркие межклоновые различия по признаку сохранности (10–90 % против 80–100 % в контроле). Это позволило провести первоначальный отбор жизнеспособных клонов, а также испытать три способа селективного воздействия NaCl, которые чаще используют в культуре *in vitro* [6]. Мягкий – с постоянным воздействием низкой концентрации соли (0,2 %) в течение трех месяцев. Ступенчатый – с поэтапным увеличением концентрации осмотика от 0,2 % до 1,0 %. Жесткий – с использованием сублетальной (1,0 %) концентрации NaCl в качестве исходной. В последних двух случаях цикл культивирования составил 50 суток (20 суток – солевое воздействие, 30 суток – на среде без NaCl).

Из таблицы видно, что в условиях мягкого и ступенчатого воздействия NaCl при общем негативном влиянии стрессового фактора (торможение роста, снижение жизнеспособности эксплантов), отмечается заметное варьирование сохранности культур березы в зависимости от их клоновой принадлежности. Это позволяет дифференцировать клоны по степени устойчивости к заданному стрессу. Максимальная степень поражения отмечена в случае жесткого воздействия NaCl. Жизнеспособность культур в среднем была в 10 раз ниже по сравнению с контролем. Единичные сохранившиеся образцы имели более мелкие листья и недоразвитые черенки, сближенные междуузлия, характеризовались выраженным хлорозом. Таким

образом, мягкий и ступенчатый способы селективного воздействия являются наиболее информативными для селекции березы *in vitro*, обеспечивают четкую дифференциацию клонов при сохранении регенерационной способности образцов.

Таблица – Сохранность культур (%) отдельных клонов березы в зависимости от способа селективного воздействия NaCl в культуре *in vitro*

Клон	Контроль (без NaCl)	Способ селективного воздействия NaCl		
		жесткий	ступенчатый	мягкий
2 пш	80,0	6,6	17,8	20,0
3 пш	90,5	13,3	60,0	45,3
6 пш	90,0	18,2	62,5	43,7
18к	90,3	0	22,9	16,0
Ап	81,1	0	10,0	9,1
R2	84,6	10,0	13,2	20,8
Среднее	86,1 ± 1,1	8,0 ± 1,6*	31,6 ± 5,3*	25,8 ± 3,3*

Примечание. Различия с контролем существенны при * $p < 0,001$. Клоны: 2 пш, 3 пш, 6 пш – береза пушистая, 18к, Ап – береза карельская, R2 – береза далекарлийская.

Для испытанных клонов тополя лучшие результаты получены при жестком способе воздействия (1 % NaCl). При резком снижении роста (0,7±0,1 см против 3,8±0,4 см в контроле) сохранность культур варьировала от 7,8±5,9 % до 40,0±5,3 % против 92,3±4,7 % в контроле. Это позволило выделить относительно устойчивые клоны, показавшие идентичные результаты при повторном сублетальном воздействии стрессового фактора. Тенденция дифференциации клонов березы и тополя по биотехнологическим показателям сохраняется при изменении параметров солевого стресса (продолжительность, интенсивность и последовательность). Биотестирование коллекционного материала при различных способах селекции *in vitro* позволило выделить наиболее устойчивые к солевому стрессу клоны березы и тополя в условиях *in vitro*.

Литература

- Егорова Н. А. Разработка методических основ клеточной селекции лаванды *in vitro* на устойчивость к NaCl // Экосистемы, их оптимизация и охрана. 2011. Вып. 5. С. 173–179.
- Тихонова И. Г. Создание устойчивых к вирусам форм вишни методами биотехнологии // Генетические основы эволюции и селекции: сборник научных трудов. 2002. С. 94–96.
- Шмаков В. Н. Изучение меж- и внутривидовых различий по устойчивости и действию фтора у сибирских лиственниц методом культуры *in vitro*. Автореф. дисс. ...канд. биол. наук. Иркутск: Сибирский институт физиологии и биохимии растений, 2004. 23 с.
- Аmineva E. Yu., Tabatskaya T. M., Mashkina O. S., Popov V. N. Оценка засухоустойчивости отдельных генотипов *Pinus sylvestris* L. на основе метода культуры ткани *in vitro* в моделируемых стрессовых условиях // Труды Санкт-Петербургского научно-исследовательского института лесного хозяйства. 2017. № 1. С. 14–22.
- Tabatskaya T. M., Mashkina O. S. Опыт длительного хранения коллекции ценных генотипов березы с использованием безгормональных питательных сред // Лесоведение. 2020. № 2. С. 147–161.
- Терлецкая Л. В. Неспецифические реакции зерновых злаков на абиотические стрессы *in vivo* и *in vitro*. Алматы, 2012. 206 с.

UDC 57.085

Tabatskaya T. M., Amineva E. Yu., Mashkina O. S.

Biotechnological assessment of the birch and poplar collection material in salt stress *in vitro* culture

Summary. A biotechnological assessment (growth, viability, preservation of regeneration potentials) of 16 clones of different birch and poplar species, hybrids and polyploids under saline NaCl conditions *in vitro* culture was carried out. Three methods of selective exposure to the stressor were tested: chronic (0.2 % NaCl), stair-step (staged increase in the NaCl content in the nutrient medium from 0.2 % to 1.0 %) and hard (1.0 % NaCl). An algorithm for the formation of a selective *in vitro* system for differentiation and selection of birch and poplar resistant clones under conditions of artificial salinization is proposed.

Keywords: birch, poplar, *in vitro* breeding, salt stress, selective system.