

Глава 4.

БИОТЕХНОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

УДК 57.085

doi: 10.31360/2225-3068-2021-79-60-66

**ОЦЕНКА СОЛЕУСТОЙЧИВОСТИ *POPULUS L.*
В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИРУЕМОГО СТРЕССА
*IN VITRO***

Аmineва Е.Ю.¹, Табацкая Т.М.¹, Машкина О.С.^{1,2}

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Всероссийский научно-исследовательский институт
лесной генетики, селекции и биотехнологии»

² Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Воронежский государственный университет»

г. Воронеж, Россия, e-mail: elena.pardaeva@mail.ru

В связи с глобальными климатическими изменениями, а также увеличением скорости и масштабов антропогенных нагрузок ежегодно возрастает необходимость в растениях с повышенной устойчивостью по отношению к различным стрессорам для сохранения и восстановления лесных генетических ресурсов. Тополь (*Populus L.*) относится к породам, характеризующимся скороспелостью, быстрым ростом, экологической пластичностью, что способствует решению данных вопросов по повышению продуктивности и срокам выращивания лесных насаждений. В настоящей статье представлены результаты эксперимента по изучению реакции тополя из коллекции длительного хранения *in vitro* в ответ на моделируемый стресс – засоление (NaCl), как один из наиболее распространённых абиотических стрессов. Установлено, что все клоны, задействованные в эксперименте, оказались восприимчивыми по отношению к заданному стрессовому фактору. Показана межклоновая и внутрикклоновая изменчивость тополя по отношению к стрессору.

Ключевые слова: тополь, *in vitro*, стресс, устойчивость, засоление.

В последние десятилетия в связи с глобальными климатическими изменениями, увеличением скорости и масштабов антропогенных нагрузок для сохранения и восстановления лесных генетических ресурсов возрастает необходимость в растениях с повышенной устойчивостью [1, 3, 10]. Что касается тополя (*Populus L.*), то среди его особенностей следует обратить внимание на скороспелость, быстрый рост, экологическую пластичность, способствующие решению проблем по подъёму продуктивности лесных насаждений и срокам их выращивания [6, 11]. Применение культуры ткани *in vitro* ускоряет процесс селекции и позволяет в короткие сроки размножить ценные генотипы

[4]. Селекционные достижения с применением технологии *in vitro* имеются для сельскохозяйственных растений, однако подобные результаты встречаются и для древесных растений, но в основном плодовых. Для лесных древесных растений разработка селективных систем *in vitro* носит поисковый характер. Достижения селекции *in vitro* для сельскохозяйственных растений наряду с наличием имеющихся технологий клонального размножения древесных [5, 9] позволяют прогнозировать аналогичные исследования относительно древесных лесных растений. В лаборатории биотехнологии ФГБУ «ВНИИЛГИСбиотех» ранее была разработана биотест-система на основе каллусных культур *in vitro* по определению засухоустойчивых форм сосны обыкновенной [2].

Моделирование стрессовых условий в культуре *in vitro* является перспективным направлением селекции растений. Засоление – один из наиболее распространённых абиотических стрессов. В ряде работ отмечается, что засоление NaCl как минимум состоит из трёх компонентов – осмотического, токсического и специфического [13, 15]. В связи с этим универсальной реакцией опытного образца на действие стрессора *in vitro* является, прежде всего, угнетение его ростовых показателей. Как отмечается многими исследователями в области селекции *in vitro*, высокие требования к исходному материалу определяются, в первую очередь, сохранностью регенерационного потенциала и чувствительностью к условиям культивирования [7, 16].

В связи с этим была обозначена следующая **цель исследования** – изучение потенциальной устойчивости культур тополя в условиях солевого стресса в культуре *in vitro*.

Объекты и методы. Материалом для исследований в экспериментах служили 4 клона тополя: 1/03 (гибрид тополя белого и осины), Тпр (тополь сереющий), Тг, Е (тополь белый) из коллекции длительного хранения *in vitro* ФГБУ «ВНИИЛГИСбиотех» [12, 14] (рис. 1). В качестве эксплантов использовали микрочеренки данных клонов. Режим культивирования на всех этапах исследования – 16-часовой фотопериод, температура 25–26 °С, освещённость 2 000 люкс.

В качестве стрессирующего агента использовали 1,0%-ный раствор NaCl [8]. Эксперимент проводился в несколько этапов:

- 1) получение опытной партии микрорастений *in vitro* (1/2WPM);
- 2) моделирование солевого стресса (1/2 WPM +1,0%-ный раствор NaCl) – 3 недели с чередованием пребывания на неселективной питательной среде в течение 3–4 недель;
- 3) отбор жизнеспособных культур;
- 4) формирование наиболее устойчивых микроклонов, их размножение (1/2WPM).

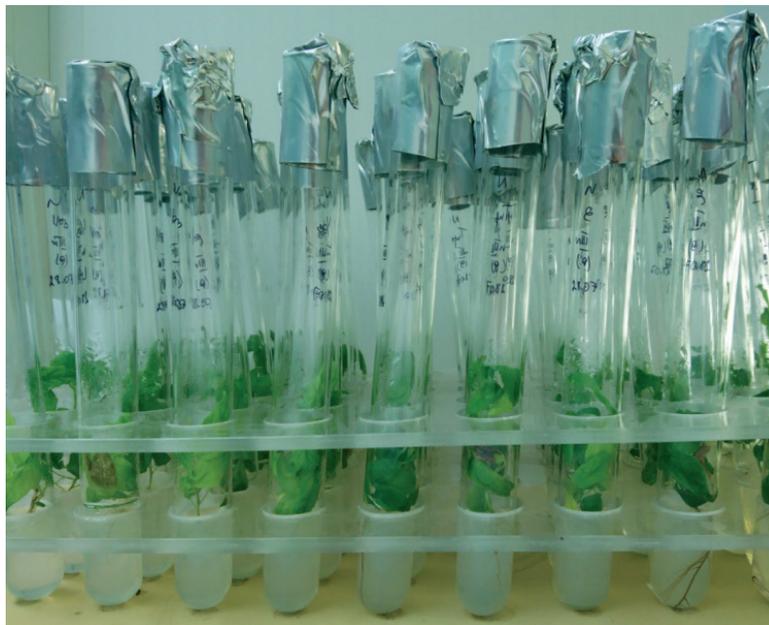


Рис. 1. Внешний вид экспериментальных образцов клонов тополя коллекции длительного хранения *in vitro*

Степень устойчивости культур по отношению к стрессовым условиям определяли по их сохранности, а также, способности к возобновлению роста в неселективных условиях. Контролем во всех экспериментах служили образцы исходных клонов в неселективных, стандартных условиях культивирования. В каждом эксперименте было задействовано не менее 20 образцов на генотип в трёхкратной повторности.

Статистическую обработку данных проводили с использованием программ Stadia и MS Excel.

Результаты и их обсуждение. Сохранность культур всех клонов в контрольном варианте составила 100 %. После трёхкратного пребывания на селективной питательной среде сохранность культур сократилась: для клона Тпр – до 78,5 %, для 1/03 – до 79,3 %, незначительно для клона Е – до 96,7 %. Однако для клона Тг уровень сохранности остался практически неизменным 99,9 %. После четвертого пребывания на селективной питательной среде результаты оказались неоднозначными. Для клона Тг отмечалось резкое снижение по данному показателю до 63,3 %. Для клона Тпр снижение уровня сохранности незначительно – 75,9 %, для клона 1/03 отмечалось некоторое повышение сохранности культур относительно третьего пребывания на среде с добавлением NaCl – до 91,1 % (рис. 2).

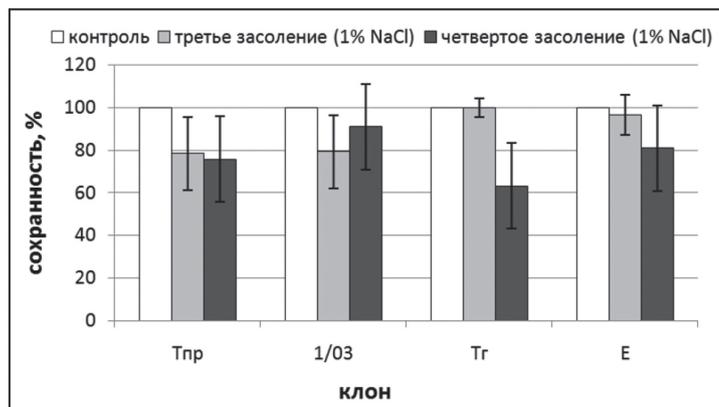


Рис. 2. Сохранность микрочеренков тополя в условиях засоления питательной среды 1,0%-ным раствором NaCl

Стоит отметить, что вне зависимости от клоновой принадлежности присутствие 1,0%-ного раствора NaCl угнетает ростовые показатели. В контрольном варианте для всех клонов показатели морфогенеза находятся в норме. Однако, несмотря на то что микрочеренки сохраняют жизнеспособность на селективной питательной среде, морфогенез у них практически отсутствует, отмечается пожелтение и гибель. Лишь для единичных экземпляров наблюдается слабое формирование побега или корня (рис. 3).

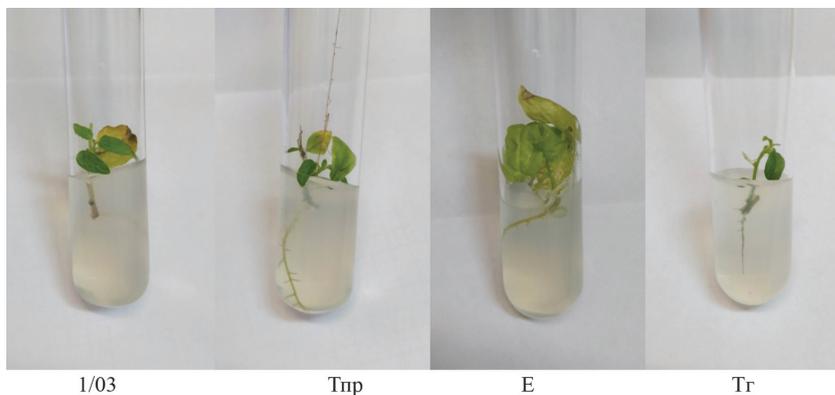


Рис. 3. Морфогенез у клонов тополя *in vitro* на селективной питательной среде (3 недели культивирования)

Важным этапом в селекционном процессе с применением технологий *in vitro* является возобновление роста микрочеренков после пребывания на селективной питательной среде. Оценку возобновления роста микрочеренков опытных образцов вели на 3–4 неделю их пребывания на питательной среде без добавления соли. После

трёхкратного пребывания на питательной среде с добавлением 1,0%-ного NaCl возобновление роста микрочеренков клона Тг сохранилось на прежнем уровне, сходным с контролем – 100 %. Однако после очередного пребывания в условиях засоления уровень возобновления роста резко снизился до 46,7 %, то есть более чем в 2 раза. Аналогичные изменения по данному показателю можно наблюдать и для клона Тпр: после трёх засолений его уровень составил 91,8 %, после четвертого – 56,1 %. Для клонов 1/03 и Е также отмечается снижение показателей в возобновлении роста: от 92,3 % до 80,8 % и от 77,7 % до 62,3 %, соответственно (рис. 4).

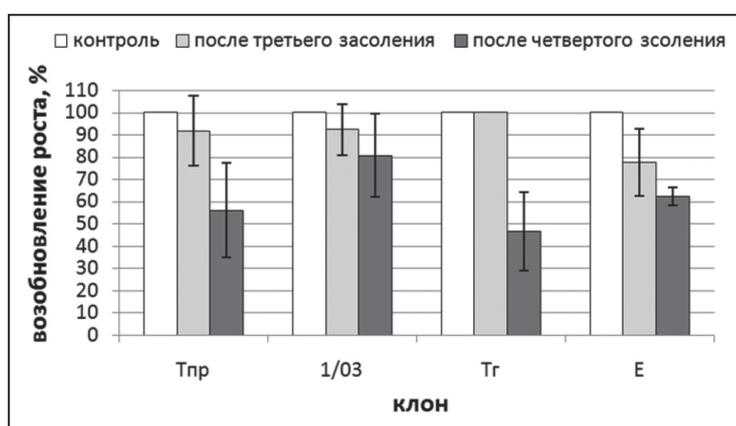


Рис. 4. Межклоновые различия в возобновлении роста микрочеренков тополя на питательной среде $\frac{1}{2}$ WPM после засоления 1,0%-ным NaCl (3–4 недели культивирования)

Заключение. На основании полученных результатов можно сделать вывод о том, что все клоны являются восприимчивыми к введению 1,0%-ного NaCl в питательную среду, однако степень их чувствительности не одинакова. Так, клон Тг демонстрирует резкое снижение сохранности после четырёхкратного засоления на селективной питательной среде, показатель морфогенной способности в условиях стресса также самый низкий, возобновление роста для него составляет 46,7 %. В противоположность ему можно привести клон 1/03: после засоления его сохранность составила 91,1 %, по показателю уровня возобновления роста он также лидирует. Клоны Тпр и Е занимают промежуточное положение по отношению к засолению питательной среды, так как показатели сохранности и морфогенеза на среде с NaCl достаточно высокие, однако уровень возобновления роста недостаточно высок.

Таким образом, показана возможность дифференцировать и производить отбор наиболее устойчивых к солевому стрессу (NaCl) культур тополя.

Библиографический список

1. Александров А., Пандева Д. Лесные генетические ресурсы Европы, их сохранение и использование // Теоретическая и прикладная экология. – 2008. – № 1. – С. 80-84. – ISSN 1995-4301.
2. Аминова Е.Ю., Гуреев А.П., Табацкая Т.М., Машкина О.С., Попов В.Н. Генотипическая изменчивость *Pinus sylvestris* L. по признаку засухоустойчивости // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2019. – Т. 23. – № 1. – С. 15-23. – ISSN 2500-0462.
3. Доронин М.С. Воспроизводство лесов на основе интенсивного лесного хозяйства: региональные аспекты // Лесотехнический журнал. – 2016. – № 2. – С. 7-15. – ISSN 2222-7962.
4. Лебедев В.Г., Булатова И.В., Шадрин Т.Е., Чурочкина О.А., Шестибратов К.А. Применение методов биотехнологии для повышения продуктивности лесных культур // Лесохозяйственная информация. – 2008. – № 3-4. – С. 28-29. – ISSN 2073-0462.
5. Машкина О.С., Табацкая Т.М. Опытные плантационные культуры лиственных древесных растений, созданные на основе клонального микроразмножения // Размножение лесных растений в культуре *in vitro* как основа плантационного лесовыращивания. – Йошкар-Ола: ПГТУ. – 2014. – С. 87-93. – ISBN 978-5-8158-1463-9.
6. Машкина О.С., Исаков Ю.Н. Микроразмножение хозяйственно ценных генотипов осины // Сохранение, изучение и воспроизводство генетических ресурсов лесных древесных растений: сб. науч. тр. – Воронеж: НИИЛГиС, 2007. – С. 47-58. – ISBN 978-5-88242-589-9.
7. Ступко В.Ю. Технология селекции стрессоустойчивых форм мягкой яровой пшеницы в каллусной культуре // Биотехнология: состояние и перспективы развития: матер. VI Моск. Межд. Конгр. – М.: ООО «Русские Экспо Дни Групп», 2011. – 256 с. – ISBN 5-7237-0372-2.
8. Табацкая Т.М., Аминова Е.Ю., Машкина О.С. Биотехнологическая оценка коллекционного материала березы и тополя в условиях солевого стресса в культуре *in vitro* // Современное состояние, проблемы и перспективы развития аграрной науки: материалы V международной научно-практической конференции, Симферополь, 5-9 октября 2020 г. – Симферополь: ИТ «АРИАЛ», 2020. – С. 190. – ISBN 978-5-907376-24-3.
9. Табацкая Т.М., Бутова Г.П., Машкина О.С. Опытные плантационные культуры хозяйственно ценных форм карельской березы, созданные на основе технологии *in vitro*. Объект № 95. Опытно-производственные селекционно-семеноводческие объекты НИИЛГиС. – Воронеж: НИИЛГиС, 2004. – Т. 2. – С. 171-172. – ISBN 5-88242-320-1.
10. Царев А.П., Погиба С. П., Тренин В.В. Селекция и репродукция лесных древесных растений. – М.: ООО «Логос», 2001. – 503 с.
11. Царев А.П., Погиба С.П., Тренин В.В. Селекция и репродукция лесных древесных пород: учебник / под ред. А.П. Царева. – М.: ООО «Логос», 2003. – 520 с. – ISBN 5-94010-126-7.
12. Шабанова Е.А., Внукова Н.И., Машкина О.С. Влияние модификаций состава питательных сред на эффективность длительного хранения *in vitro*-клонов тополя и осины // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2020. – № 1. – С. 42-49. – ISSN 1609-0675.
13. Garthwaite A.J., von Bothmer R., Colmer T.D. Salt tolerance in wild *Hordeum* species is associated with restricted entry of Na⁺ and Cl⁻ into the shoots // Journal of Experimental Botany. – 2005. – Vol. 56. – P. 2365-2378. – <https://doi.org/10.1093/jxb/eri229>.
14. Gureev A.P., Mashkina O.S., Shabanova E.A., Vitkalova I.Yu., Sitnikov V.V., Popov V.N. Study of the amount of oxidative damage to mitochondrial and chloroplast DNA in clones of white poplar (*Populus alba* L.) during long-term *in vitro* cultivation for 26 years // Plant Molecular Biology. – 2021. – Vol. 106. – P. 479-489. – ISSN 0167-4412.
15. Munns R. Comparative physiology of salt and water stress // Plant, Soil and Environment. – 2002. – № 25. – P. 239-250. – <https://doi.org/10.1046/j.0016-8025.2001.00808.x>

16. Savita G. Virk A. Nagpal. *In vitro* selection of calli of *Citrus jambhiri* Lush, for tolerance to culture filtrate of *Phitophthora parasitica* and their regeneration // *Physiol Mol Biol Plants*. –2011. – Vol. 17(1). – P. 41-47. – <https://doi.org/10.1007/s12298-010-0046-2>.

**ASSESSMENT OF *POPULUS* L. SALT RESISTANCE
UNDER SIMULATED STRESS CONDITIONS *IN VITRO***

Amineva Ye.Yu.¹, Tabatskaya T.M.¹, Mashkina O.S.^{1,2}

¹*Federal State Budgetary Institution
“Russian Research Institute of Forest Genetics, Breeding and Biotechnology”*

²*Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education
“Voronezh State University”*

Voronezh, Russia, e-mail: elena.pardaeva@mail.ru

Due to global climate changes and increase in the speed and scale of anthropogenic loads, the need for plants with increased resistance to various stressors for conserving and restoring forest genetic resources increases annually. Poplar (*Populus* L.) refers to species characterized by early maturity, rapid growth and ecological plasticity, which contributes to solving these issues aiming to increase productivity and growing terms of forest plantations. This paper presents the experiment carried out in order to study the response of poplar, taken from the collection of long-term storage *in vitro*, to a simulated stress - salinity (NaCl), as one of the most common abiotic stresses. It was found that all the clones involved in the experiment were susceptible to the given stress factor. The interclonal and intraclonal variability of poplar in relation to the stressor is shown.

Key words: poplar, *in vitro*, stress, resistance, salinity.

УДК 581.1

doi: 10.31360/2225-3068-2021-79-66-74

**ГОЛУБИКА В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*:
МИКРОРАЗМНОЖЕНИЕ, МОРФОМЕТРИЯ,
СОДЕРЖАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ БИОАНТИОКСИДАНТОВ**

**Нечаева Т.Л.¹, Зубова М.Ю.¹, Стахеева Т.С.², Васильева О.Г.²,
Коновалова Л.Н.², Загоскина Н.В.¹**

¹*Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук*

²*Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина Российской академии наук*

г. Москва, Россия, e-mail: NechaevaTatyana.07@yandex.ru

Исследовано микроразмножение, морфометрические показатели и накопление фенольных соединений, в том числе и флавоноидов, в *in vitro* микропобегах голубики (сорта ‘Норт Кантри’ и ‘Блюкроп’). Установлена более высокая скорость микроразмножения сорта ‘Норт Кантри’ по сравнению с сортом ‘Блюкроп’. Показаны отличия в количестве и размерах их листьев.