

УДК 235.8

***Е.В. Юшкова, Е.В. Никонорова, Н.А. Величко,
И.К. Конев, С.М. Репях***

Репях Степан Михайлович родился в 1937 г., окончил в 1966 г. Сибирский технологический институт, профессор, доктор химических наук, профессор кафедры химической технологии древесины, проректор по научной работе Красноярской государственной технологической академии, член-корреспондент МАН ВШ. Имеет более 180 печатных трудов в области химии древесины, экологии, биохимии.



МИКРОРАЗМНОЖЕНИЕ ХВОЙНЫХ В УСЛОВИЯХ IN VITRO

Изучены закономерности роста и развития каллусных тканей кедра, лиственницы сибирской, сосны обыкновенной, ели европейской в зависимости от гормонального и витаминного состава питательных сред. Разработаны условия формирования и роста адвентивных побегов ели европейской, полученных из ювенильных растений (3-4 недели культивирования проростков в условиях *in vitro* на безгормональных питательных средах), на модифицированных питательных средах с минеральной основой по Sierlis (1979).

хвойные породы, посадочный материал, экспланты, каллусные ткани.

По данным ЮНЕСКО ежегодно от пожаров, вырубок и других неблагоприятных экологических факторов гибнут тысячи гектаров ценных лесов. Традиционные методы восстановления лесных массивов недостаточно эффективны, так как требуют значительных затрат времени. Поэтому возникла необходимость в разработке новой высокоэффективной технологии ускоренного получения посадочного материала, которая могла бы способствовать лесовосстановлению в районах интенсивной эксплуатации лесных массивов, а также в районах экологических бедствий.

Одним из приоритетных направлений в области биотехнологии растений является клональное микроразмножение. Благодаря микроразмножению ежегодно на мировой рынок поставляется около 5 млн шт. оздоровленных растений, масштабы производства продолжают возрастать. Методом микроклонального размножения из 1 гибридного семени в течение 6 мес. можно получить более 250 побегов для черенкования и укоренения, а 1 г эмбрионного каллуса образует до 700 соматических зародышей.

В основе всех методов получения растений путем культивирования изолированных тканей и клеток лежит принцип тотипотентности растительной клетки. Но в практической деятельности регенерация целого организма в процессе микроразмножения чаще достигается при использовании участ-

ков и органов растения, а не из отдельно взятых клеток. Как правило, это ткани, обладающие меристематической активностью: зародыши, пазушные, боковые и верхушечные почки, активные участки корня, ткани камбия. Иногда удается получать целые растения, применяя дифференцированные растительные ткани (листья, хвоинки, семядоли, генеративные органы и др.), но в этом случае органогенез может быть достигнут и через получение каллусной культуры, состоящей главным образом из недифференцированных клеток.

Культуры изолированных почек предполагают формирование новых растений из уже имеющихся в них структур. В культуре стеблевых эксплантов образуются адвентивные побеги, минуя стадию каллусогенеза. В каллусных и суспензионных культурах образование соматических эмбриоидов происходит в практически бесструктурных тканях из отдельных клеток, при этом каллус должен иметь способность образовывать такие структуры, т. е. быть эмбриогенным.

В лаборатории биотехнологии кафедры химической технологии древесины КГТА разрабатываются новые высокоэффективные технологии ускоренного получения посадочного материала для лесных культур флоры Сибири. В культуре *in vitro* находятся в настоящий момент четыре хвойных породы. Изучены закономерности роста и развития каллусных тканей кедра сибирского *Pinus sibirica* Do Tourg., лиственницы сибирской *Larix sibirica* Ledeb., ели сибирской *Picea obovata* Ledeb. и сосны обыкновенной *Pinus silvestris* Ledeb. в зависимости от гормонального и витаминного состава питательных сред. Разработаны условия формирования и роста адвентивных побегов ели сибирской, полученных из ювенильных растений (3-4 недели

9

культивирования проростков на безгормональной среде), на модифицированных питательных средах с минеральной основой по Sierlis (1979).

Двухнедельные проростки лиственницы, ели и сосны, полученные из стратифицированных семян, и изолированные зародыши кедра вводили в культуру *in vitro* на среды с различным уровнем гормонов.

Использовали три вида эксплантов из проростков: участки гипокотилей, собственно семядоли и верхушечные почки с семядолями. Для стимулирования образования каллусной ткани, экспланты помещали на агаризованные питательные среды с макросоставом Sierlis (1979) и регуляторами роста (кинетин (К), бензиламинопури (6-БАП), и 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота (2,4-Д)). Экспланты гипокотилей этих растений образовывали эмбриогенную каллусную ткань при следующей концентрации: 2,4-Д – 0,4 мг/л; 6-БАП – 1 мг/л; К – 1 мг/л. Массовая доля сахарозы в питательной среде 2 %. При дальнейшем субкультивировании ткани хвойных отличались быстрым ростом, однако индуцировать морфогенез не удалось. Экспланты семядолей, помещенные на среду того же состава, давали незначительный каллусогенез, при последующих пересадках роста тканей не наблюдалось.

При помещении эксплантов верхушечных почек ели сибирской с семядолями на среду с увеличенным содержанием сахарозы (3 %), содержанием 1 мг/л кинетина и 0,1 мг/л индилуксусной кислоты на эксплантах наблюдалось образование эмбрионного каллуса по месту среза побегов. При пересадке этих эксплантов на безгормональную среду происходило образование адвентивных побегов (до 20 побегов на эксплант), которые обладали нормальным ростом без укоренения.

Динамика роста каллусной ткани была изучена для устойчивых каллусных линий кедр, сосны и лиственницы. Контроль осуществляли по изменению сухой массы. Динамика роста каллусной ткани объектов представлена на рисунке.

Для оценки прироста ткани вычисляли коэффициент существенности различий. Так, для каллусных тканей сосны существенным, относительно первоначальной массы, был прирост ткани на 12-й день культивирования.

Прирост каллусных тканей лиственницы сибирской протекал наиболее интенсивно с 5-го по 13-й день, в последующем наблюдался равномерный рост ткани.

При анализе роста тканей кедр сибирского отмечено два пика интенсивности роста: с 9-го по 12-й и с 17-го по 21-й день.

Микроскопирование каллусных тканей кедр и лиственницы показало наличие соматических эмбриоидов. Следовательно, эти каллусные ткани можно считать эмбрионными, т. е. перспективными для получения растений-регенерантов.

Таким образом, были подобраны оптимальные условия для каллусогенеза из различных эксплантов хвойных растений флоры Сибири и получены нормально растущие адвентивные побеги ели сибирской. Планируется дальнейшая работа по их укоренению и высадке в грунт.



Изменение хода роста каллусной ткани в сухом состоянии: 1 – лиственница сибирская; 2 – кедр сибирский; 3 – сосна обыкновенная

Сибирский государственный
технологический университет

*E.V. Yushkova, E.V. Nikonorova, N.A. Velichko,
I.K. Konev, S.M. Repyakh*

Micro-reproduction of Coniferous Species in Vitro

The regularities of growth and development of the callus tissues of cedar, Siberian larch, Scots pine, common spruce are studied depending on the hormone and vitamin

composition of the nutritive medium. The conditions are developed for the formation and growth of adventitious shoots of the common spruce coming from juvenile plants (3-4 weeks of seedling incubation in vitro conditions in unihormone nutritive environment) in modified nutritive environment with a mineral basis according to Sierlis (1979).

УДК 630*181.9

А.И. Жиров, А.К. Монахов, М.А. Шубина

Жиров Андрей Иванович родился в 1961 г., окончил в 1983 г. Ленинградский государственный педагогический институт им. А.И. Герцена, кандидат географических наук, доцент кафедры физической географии и геологии Российского государственного педагогического университета им. А.И. Герцена. Имеет 32 печатные работы в области геоэкологии, оценки ресурсно-экологического потенциала таежных территорий, геотопологии.



Монахов Андриан Константинович родился в 1931 г., старший научный сотрудник ВНИИкосмоаэрогеологических методов. Имеет более 50 научных работ в области дешифрирования ландшафта и его компонентов.

