

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего профессионального образования
«ПОВОЛЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

РАЗМНОЖЕНИЕ ЛЕСНЫХ РАСТЕНИЙ
В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*
КАК ОСНОВА ПЛАНТАЦИОННОГО
ЛЕСОВЫРАЩИВАНИЯ

Материалы
международной научно-практической конференции

24-27 сентября 2014 г.

Йошкар-Ола
2014

УДК 630*228.7: 631.53

ББК 43.4

Р 17

Редакционная коллегия:

Романов Е.М., д-р с.-х. наук, профессор (научный редактор);

Шургин А.И., канд. с.-х. наук, доцент;

Шейкина О.В., канд. с.-х. наук, доцент;

Филенко Ю.А., канд. экон. наук.

Размножение лесных растений в культуре *in vitro* как основа плантационного лесовыращивания: материалы международной научно-практической конференции (г. Йошкар-Ола, 25-26 сентября 2014 г.). – Йошкар-Ола: Поволжский государственный технологический университет, 2014. – 172 с.
ISBN 978-5-8158-1463-9

В сборнике представлены материалы международной научно-практической конференции, состоявшейся 24-25 сентября 2014 г. в Поволжском государственном технологическом университете. В работе конференции приняли участие ученые и представители бизнеса из 11 регионов Российской Федерации. В ходе конференции рассмотрены методические основы создания и выращивания посадочного материала для лесных плантаций с использованием биотехнологии и вопросы создания и эксплуатации лесных плантаций различного целевого назначения.

Для широкого круга специалистов лесного хозяйства, научных работников, аспирантов, студентов и преподавателей вузов лесобиологического профиля.

УДК 630*228.7: 631.53

ББК 43.4

ISBN 978-5-8158-1463-9

© Поволжский государственный
технологический университет, 2014

1. БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ СОЗДАНИЯ И ВЫРАЩИВАНИЯ ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА ДЛЯ ЛЕСНЫХ ПЛАНТАЦИЙ

УДК 630.181.5: 58.085. (571.6)

МИКРОКЛОНАЛЬНОЕ РАЗМНОЖЕНИЕ ДРЕВЕСНЫХ ЛЕСНЫХ РАСТЕНИЙ ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА РОССИИ: ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ

А. В. Бабикова, И. В. Гафицкая, Ю. Н. Журавлев

Биолого-почвенный институт ДВО РАН

Babikovaav@rambler.ru, Gafitskaya@biosoil.ru, Zhuravlev@ibss.dvo.ru

Леса российского Дальнего Востока занимают огромные площади и значительны по запасам ценных хвойных и твердолиственных пород деревьев. Согласно сведениям, внесенным в государственный лесной реестр, по состоянию на 01.01.2014 года в Приморском крае леса занимают 81% территории края. Уникальны и наиболее ценные кедровошироколиственные леса, где произрастает кедр корейский с участием ели аянской, пихт белокорой и цельнолистной, дуб монгольский, ясень маньчжурский, бархат амурский, орех маньчжурский и другие виды древесных пород. Антропогенное влияние на лесные экосистемы Приморского края постоянно возрастает, что приводит к сокращению площади естественных лесов. В связи с этим сохранение генофонда растений и рациональное использование растительных ресурсов является не только важнейшей научной задачей, но и приобретает все большее хозяйственное значение.

Развитие современного лесного хозяйства в России требует повышения его производительности за счет использования биотехнологических методов, в частности микроклонального размножения растений *in vitro*. Микроклонирование позволяет повысить эффективность черенкования и быстро размножить ценные высокопродуктивные генотипы в необходимых количествах вне зависимости от урожайности и всхожести семян. Сохранение генетических ресурсов с использованием банков депонирования растительного материала *in vitro*, генетическая паспортизация и сертификация семян позволяют организовать производство уникального сортового и видового посадочного материала для после-

дующей поставки лесным хозяйствам с целью восстановления леса, а также для промышленного производства леса и реинтродукции.

Работы по культуре *in vitro* лиственных пород, таких как осина, береза, ива и ясень, проводятся в НИИ лесной генетики, селекции биотехнологии (г. Воронеж), в Институте леса КарНЦ РАН (г. Петрозаводск), в НИИ лесного хозяйства (г. Санкт-Петербург), в Институте биоорганической химии (г. Пущино), что позволяет прогнозировать успешное внедрение лиственных пород в практику плантационного лесовыращивания. Хвойные же растения являются наиболее сложными объектами для различных методов регенерации *in vitro*, поэтому разработка эффективной системы их клonalного микроразмножения является актуальной задачей [1]. На Дальнем Востоке России до настоящего времени широко- масштабные работы по размножению древесных видов растений с помощью микроклонирования не проводились.

В Биолого-почвенном институте ДВО РАН более тридцати лет проводятся работы с культурой каллусов многих редких, лекарственных и сельскохозяйственных растений, но только с 2012 года выделено направление микр克лонального размножения древесных растений. Кроме каллусных культур в коллекции имеются трансформированные и трансгенные линии женьшения, рубии, тиса и др., а также трансформированные корни гиностеммы, кодонопсиса. Материал коллекции используется для выполнения работ, связанных с изучением синтеза вторичных метаболитов, а также для получения альтернативного источника биологически активных веществ. В рамках программы восстановления (реинтродукции) приморской популяции женьшения создана фондовая коллекция растений дикорастущего *Panax ginseng* C.A. Meyer, на базе которой разрабатываются технологии восстановления природных популяций женьшения и отбора маточных растений для реинтродукции.

С учетом того что некоторые виды являются редкими и популяции их немногочисленны, отработку методических приемов микроразмножения и оптимизации условий культивирования проводили на четырех сортах листопадного рододендрона [2], которые впоследствии применяли для дикорастущих видов. К дальневосточным относятся 11 видов и 2 формы рододендрона, различающиеся по статусу редкости (эндемичные, редкие) [3]. Из других дальневосточных лиственных растений были введены в культуру *in vitro* чубушник тонколистный и принсепия китайская (редкий вид). Отработку методики культивирования хвойных пород начали с можжевельника твердого (форма шарообразная), тиса остроконечного и ели колючей. Можжевельник имеет статус редкости 2 (сокращающийся в численности), тис – 3 (редкий). Все принятые в ра-

боту виды растений могут быть использованы в ландшафтном дизайне и озеленении городов.

Цель настоящей работы – оптимизация методик микроклонирования декоративных и основных лесообразующих пород деревьев для их сохранения и реинтродукции с использованием модельных видов.

Объектами для введения в культуру *in vitro* были следующие виды: рододендрон японский *Rhododendron japonicum* (A. Gray) Suring., р. си-хотинский *Rh. sichotense* Pojark., р. даурский *Rh. dauricum* L., р. желтый *Rh luteum* Sweet., р. Шлиппенбаха *Rh. schlippenbachii* Maxim., чубушник тонколистный *Philadelphus tenuifolius* Rupr. et Maxim., принсепия китайская *Princepsia sinensis* (Oliv.) Bean, можжевельник твердый (форма шарообразная) *Juniperus rigida* Siebold et Zucc. subsp. *litoralis* Ursussov, тис остроконечный *Taxus cuspidata* Siebold et Zucc. ex Endl. и ель колючая *Picea pungens* Engelm.

Индукция морфогенеза *in vitro* зависит от многих факторов, наиболее важными из которых являются подбор первичного экспланта и соотношение концентраций фитогормонов в питательных средах. В качестве первичных эксплантов использовали апикальные и латеральные почки побегов текущего года. Стерилизацию проводили последовательной обработкой мыльно-щелочным раствором, 0,1%-м раствором диацида с многократным отмыванием стерильной дистиллированной водой. После стерилизации черенки лиственных пород помещали вертикально на оптимизированную нами питательную среду на основе макро- и микросолей WPM [4]. В качестве стимуляторов роста для них использовали 2-изопентениладенин в концентрации 8 мг/л и 3-индолилуксусную кислоту – 4 мг/л. Для укоренения рододендрона микропобеги длиной от 0.8 до 1.0 см пересаживали на питательную среду на основе макро- и микросолей WPM с добавлением индолил-3-масляной кислоты в концентрации 1 мг/л. Экспланты хвойных пород вначале поместили на питательную среду, содержащую макро- и микросоли и витамины по MS [5] с добавлением кинетина (0.2 мг/л) и 3-индолилуксусной кислоты (1 мг/л), затем на питательную среду на основе макро- и микросолей WPM с добавлением фитогормонов: зеатина в концентрации 1.5 мг/л и 3-индолилуксусной кислоты – 1 мг/л.

Результаты показали, что исходный материал лиственных пород имел низкий процент зараженности (до 30%) как грибной, так и бактериальной инфекцией. Начало развития почек на первичных эксплантах отмечено через 4 недели культивирования на отработанной нами питательной среде для индукции побегообразования [2]. Через 8 недель вы-

сота молодых побегов у рододендрона японского, р. сихотинского, р. даурского и р. желтого увеличилась до 2.0 см. Начало образования множественных побегов у р. японского отмечено через 7 месяцев культивирования, у р. сихотинского, даурского и желтого через 3 месяца, в то время как для чубушника и принсепии отмечен только рост побегов в длину. Микропобеги рододендрона японского, даурского и желтого длиной от 0.8 до 1.0 см помещали на питательную среду для укоренения. Формирование и развитие корешков происходило в течение месяца. Для чубушника и принсепии установлены условия для спонтанного укоренения на среде побегообразования.

При введении хвойных пород в культуру ткани основная проблема заключается в высокой зараженности побегов внутренней грибной инфекцией. Поражение микрочеренков можжевельника составило более 60%, тиса – более 70%, ели – более 80%. Увеличение концентрации стерилизующего агента приводило к некрозу пазушных почек у всех исследуемых видов. Кроме того, гибель эксплантов тиса вызывает выделение продуктов окисления фенольных соединений в питательную среду. Дальнейшая работа по подбору эффективных приемов стерилизации хвойных растений продолжается. В нашем эксперименте первичные экспланты хвойных пород были помещены на питательную среду, содержащую соли и витамины по MS с добавлением кинетина и 3-индолилуксусной кислоты. Развитие почек на данной среде не отмечено, но при дальнейшем переносе их на модифицированную нами питательную среду, содержащую соли по WPM, зеатин и 3-индолилуксусную кислоту, отмечена регенерация практических всех жизнеспособных эксплантов.

С учетом этого в настоящее время с использованием разработанной нами методики в качестве научной основы проводятся экспериментальные работы по введению в культуру 18 видов дикорастущих древесных растений, включающих орехоносные и основные лесообразующие породы, хвойные и широколистственные, плодовые, декоративные, редкие и реликтовые растения. При этом для каждого вида подбираются условия стерилизации и культивирования.

Таким образом, в результате наших исследований проведена оптимизация методик микроклонирования древесных видов растений с использованием представителей рода *Rhododendron* L. в качестве модельного объекта. Продолжается исследование 18 видов лесообразующих пород деревьев.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лебедев В.Г., Шестибратьев К.А. Органогенез сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) в культуре *in vitro* // Хвойные бореальной зоны. 2012. № 1-2. С. 114–119.
2. Микроплантажирование декоративных древесных растений / Бабикова А.В., Гафицкая И.В., Корень О.Г. и др. // Проблемы озеленения населенных пунктов: материалы городской научно-практической конференции. Владивосток, 2013. С. 10–14.
3. Петухова И.П. Рододендроны на юге Приморья. Интродукция, культура / И.П. Петухова. Владивосток: БСИ ДВО РАН, 2006. 131 с.
4. Lloyd G and McCown B.H. Commercially-feasible micropagation of Mountain Laurel, *Kalmia latifolia*, by shoot tip culture // Proc. Int. Plant Prop. Soc. 1981. Vol. 30. P. 421–427.
5. Murashige T. and Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures // Physiologia Plantarum. 1962. Vol. 15. P. 473–497.

УДК 069.5:582.632.1:581.143.6

ОПЫТ СОЗДАНИЯ КОЛЛЕКЦИИ ЦЕННЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ СЕМЕЙСТВА *BETULACEAE* L., ПРОИЗРАСТАЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ ФЕННОСКАНДИИ, С ПОМОЩЬЮ КЛОНАЛЬНОГО МИКРОРАЗМНОЖЕНИЯ

Л. В. Ветчинникова, А. Ф. Титов, Т. Ю. Кузнецова
Институт леса Карельского научного центра РАН
vetchin@krc.karelia.ru

На территории Фенноскандии наряду с карельской бересой (*Betula pendula* Roth var. *carelica* (Merclin) Hämet-Ahti), обладающей высокой ценностью узорчатой текстурой древесины, встречаются и другие редкие представители семейства *Betulaceae* L., также характеризующиеся определенными декоративными особенностями, в частности, далекарлийская береса (*Betula pendula* Roth var. *dalecarlica* Schneid. (L. f.)), ольха мелкоплодная (*Alnus incana* f. *angustissima* Holmberg ex Hylander) и др. В силу ограниченности своих ресурсов и низкого уровня самовоспроизведения все они оказались в последние годы под угрозой исчезновения. В связи с этим резко обострилась проблема сохранения и воспроизводства их генофонда и/или наиболее ценных генотипов.

Эффективным способом поддержания генетического разнообразия и сохранения древесных растений в естественных и искусственно создан-

Научное издание

РАЗМНОЖЕНИЕ ЛЕСНЫХ РАСТЕНИЙ
В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO* КАК ОСНОВА
ПЛАНТАЦИОННОГО ЛЕСОВЫРАЩИВАНИЯ

Материалы
международной научно-практической конференции

24-27 сентября 2014 г.

Редакторы

Л. С. Емельянова, П. Г. Павловская
Компьютерный верстка
О. В. Шейкина, С. Н. Эштыкова

Подписано в печать 08.12.2014. Формат 60×84 $\frac{1}{16}$.
Бумага офсетная. Печать офсетная.
Усл. печ. л. 10,0. Тираж 500 экз. Заказ № 5501.

Поволжский государственный технологический университет
424000 Йошкар-Ола, пл. Ленина, 3

Редакционно-издательский центр ПГТУ
424006 Йошкар-Ола, ул. Панфилова, 17