

А.В. Константинов, науч. сотр.;
Д.В. Кулагин, науч. сотр.;
Л.А. Богинская, мл. науч. сотр.;
Н.В. Осипенко, асп., мл. науч. сотр.;
Е.Н. Полевикова, инж. 1 кат.;
О.В. Емельянова, инж. 1 кат.;
М.П. Кусенкова, науч. сотр.
(ГНУ «Институт леса НАН Беларуси», г. Гомель)

МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ РЕГЕНЕРАНТОВ БЕРЕЗЫ В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИРУЕМЫХ АБИОТИЧЕСКИХ СТРЕССОВ *IN VITRO*

Лесные экосистемы находятся в условиях постоянно возрастающей антропогенной нагрузки, что на фоне постоянно усложняющихся климатических условий определяет необходимость развития новых подходов в лесной селекции для направленного скрининга форм древесных растений, характеризующихся комплексной устойчивостью к воздействию неблагоприятных условий среды [1, 2].

Наряду с засухой и экстремальными температурами, одним из основных абиотических факторов, оказывающих негативное влияние на ростовые и метаболические процессы растений, выступает засоление. Негативное воздействие накопления различных солей (нитратов, хлоридов и др.) проявляется в ухудшении процессов минерального питания, водного обмена, биосинтеза и работы фотосинтетического аппарата, что влечет снижение ростовой активности, скорости накопления биомассы и сопротивляемости патогенным инфекциям и вредителям [3].

На основе современных принципов инженерии окружающей среды возможна разработка эффективных решений проблемы засоления почв путем лесовосстановления с использованием посадочного материала, размноженного с применением методов лесной биотехнологии. Важным аспектом является возможность проведения клеточной селекции, разработка основ которой включает моделирование стрессовых условий для дифференциации генотипов, выделенных по различным хозяйственным признакам [2, 4].

Цель работы состояла в оценке сохранности и изучении особенностей органогенеза микроклональных растений березы в культуре тканей под воздействием искусственного засоления и осмотического стресса в культуре тканей.

В качестве объектов для проведения исследований использовали регенеранты стабильных культур различных представителей рода *Bet-*

ula L. из коллекции *in vitro* Института леса НАН Беларуси: береза повислая (*B. pendula* Roth., клоны бб31, бб9а1, 171-б, 6-161/3, 6-167/9, 6-176/18, 66-150/10, 171-б) и ее карельская форма: (*B. pendula* Roth. var. *carelica* (Mercklin) Hämet-Ahti, клоны С08419, кб2а1, кб76, ВСО6, кб81, КСО6), береза пушистая (*B. pubescens* Ehrh., клон бп3ф1), а также гибриды различного происхождения (*B. pendula* × *B. pubescens* и *B. pubescens* × *B. pendula*, клоны 52-84/8 и Вh5f3n, соответственно).

Двухмесячные микропобеги мультиплицировали в культуральные сосуды объемом 100 мл на среды MS (Murashige & Skoog, 1962), дополненные для моделирования условий солевого и осмотического стресса хлоридом натрия или полиэтиленгликолем (ПЭГ-6000) в концентрациях 0,25%, 0,50% и 4%, 6% соответственно, регенеранты контрольной группы культивировали на среде без добавок. Продолжительность пассажа составляла 45 суток. Все эксперименты ставили в двух повторностях, высаживая по 20 эксплантов на каждый вариант среды. Еженедельно оценивали жизнеспособность эксплантов и их морфофизиологическое состояние. В конце пассажа рассчитывали интенсивность укоренения (процент укоренившихся эксплантов от числа жизнеспособных).

Культивирование на средах, содержащих NaCl, приводило к постепенному некрозу базальных частей эксплантов, при этом интенсивность повреждения тканей увеличивалась с повышением содержания соли в среде. Так в случае концентрации NaCl равной 0,50% к концу первой недели выращивания для отдельных клонов был отмечен некроз от 45,0-52,2% материала (клоны бб31 и бб9а1, С08419, бп3ф1), 65,0-67,5% (клоны 6-197/9 и 6-176/18) и до 100% материала (клоны 6-161/3, 66-150/10, 171-б березы повислой и кб2а1, ВСО6, кб81, КСО6 карельской березы, гибрида Вh5f3n). В то же время у регенерантов гибридной березы 52-84/8 видимые признаки повреждения стали заметны после 12-17 дней культивирования эксплантов, количество некротизированного материала составило не более 30,0%, при этом на 7 день визуально отмечали начало развития побегов из пазушных почек на фрагментах стеблей.

Относительно интенсивности ризогенеза на средах с добавлением хлорида натрия выявлены следующие особенности: при концентрации 0,25% NaCl наибольший процент укоренившегося материала березы повислой получен в случае регенерантов клонов 6-176/18 и 171-б (61,5% и 51,9%), для карельской березы клонов С08419 и кб76 отмечено укоренение до 71,0-74,2%, а гибридной березы 52-84/8 и бп3ф1 – 93,9% и 64,9% соответственно. Укореняемость регенерантов снижалась в 1,2-4,9 в сравнении с контрольными показателями.

Корнеобразования в присутствии 0,50% концентрации NaCl отмечалось лишь у отдельных растений или отсутствовало для большинства клонов, исключая бб31, 6-176/18, кб76, 52/84-8 и бп3ф1.

Отмечено, что на средах, содержащих хлорид натрия, экспланты тестируемых клонов березы отличались формированием небольших утолщений базальных частей микрочеренков, при этом экспланты клонов 171-б, кб2а1 и КСО6 характеризовались развитием сахаристого каллуса. Указанная реакция может являться проявлением защитно-морфогенетического ответа на токсическое действие NaCl.

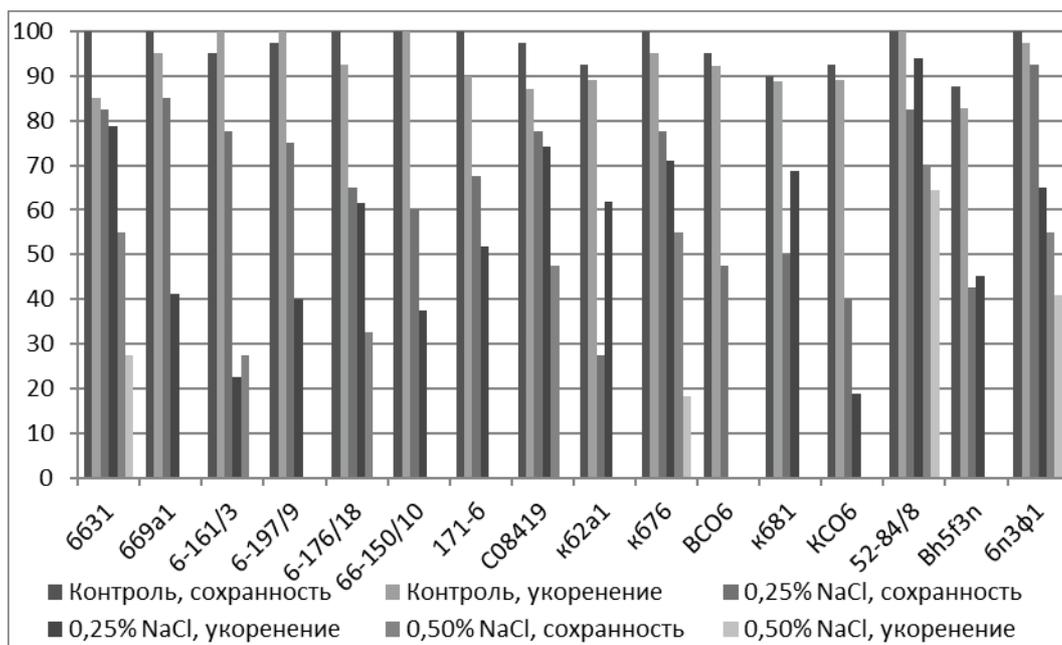


Рисунок 1 – Сохранность и укоренение микрочеренков березы *in vitro* различных клонов в присутствии хлорида натрия

В конце пассажа на средах с ПЭГ-6000в отмечали признаки витрификации некоторых развившихся микропобегов в апикальных частях. На среде с 4% ПЭГ для березы повислой установлена жизнеспособность 25,0-72,2% регенерантов, большие значения отмечены для клонов 6-161/3 и 171-б (72,2% и 63,9% соответственно). В то же время на средах с 6% ПЭГ изучаемый показатель не превышал 47,2% (клон 171-б), а для регенерантов бб31, 6-167/9 и бб9а1 (33,3-38,9%). Экспланты клона 66-150/10 ростовой активности не проявили.

Относительно клонов карельской березы следует отметить пониженную, в сравнении с березой повислой жизнеспособность черенков в условиях моделируемого стресса в культуре тканей, максимальная сохранность материала 61,1% отмечена для клона кб81 и 58,3% для С08419 при использовании 4% ПЭГ. При повышении содержания селективного агента в среде до 6%, показатель снижался соответственно до 11,1% и 36,1%.

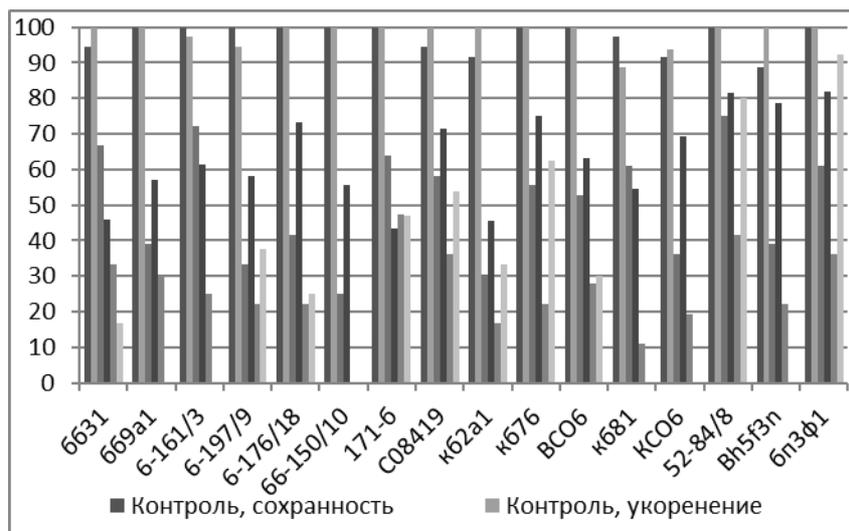


Рисунок 2 – Сохранность и укоренение микрочеренков березы *in vitro* различных клонов в присутствии полиэтиленгликоля

Оценка интенсивности укоренения регенерантов березы повислой показала, что на средах с 4% ПЭГ корни формируют до 73,3% микрорастений (клон 6-176/18), укоренение около 58% растений установлено для клонов бб9а1 и 6-161/3, а для клонов бб31 и 171-б отмечены чуть меньшие показатели: 45,8% и 43,5% соответственно.

При 6% содержании ПЭГ в среде, максимальный ризогенез наблюдался для клона 171-б (47,1%), при этом регенеранты клонов бб9а1 и 6-161/3 корней не формировали. Микроклональные растения карельской березы на фоне 4% ПЭГ укоренялись интенсивнее: показатель варьировал в широких пределах 33,3-75,0%. Кроме того, отмечено корнеобразование на уровне 30,0-62,5% и в случае 6% содержания ПЭГ в среде.

ЛИТЕРАТУРА

1. Tal M. *In vitro* selection for salt tolerance in crop plants: Theoretical and practical considerations // *In Vitro Cell. Dev. Biol.* 1994. Vol. 30, No 4. P. 175-180.
2. Parida A., Das A. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review // *Ecotox. and Env. Safety.* 2005. Vol. 60. P. 324–349.
3. Agarwal P.K., Shukla P.S., Gupta K. Bioengineering for salinity tolerance in plants: state of the art // *Molecular biotechnology.* 2013. Vol. 54. P. 102–123.
4. Табацкая Т.М., Внукова Н.И., Машкина О.С. Влияние засоления на рост и развитие березы пушистой и карельской березы в условиях *in vitro* и *ex vitro* // *Вестн. Поволж. ун-та.* 2021. №3 (51). С. 59-68.