

ДЛИТЕЛЬНОЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЕ *IN VITRO* КАРЕЛЬСКОЙ БЕРЕЗЫ И ЕГО ВЛИЯНИЕ НА ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКУЮ СТАБИЛЬНОСТЬ И ПРОЯВЛЕНИЕ ХОЗЯЙСТВЕННО-ЦЕННЫХ ПРИЗНАКОВ¹

О.С. Машкина, Т.М. Табацкая

Воронежский государственный университет, Россия
НИИ лесной генетики и селекции, Россия

Поступила в редакцию 26 октября 2010 г.

Аннотация: Выявлены различия в характере проявления внешних признаков узорчатости древесины у растений клона карельской березы (*Betula pendula* Roth var. *carelica* Merkl.) разной длительности (год, 10 и 11 лет) культивирования *in vitro* и влияние на них степени цитогенетической нестабильности соматической ткани.

Ключевые слова: длительное культивирование, цитогенетическая стабильность, узорчатость древесины.

Abstract: The differences in the nature of the manifestation of outward signs of figured wood in plants clone Karelian birch (*Betula pendula* Roth var. *carelica* Merkl.) of different duration (year, 10 and 11 years old) *in vitro* culture and the influence of the degree of cytogenetic instability in somatic tissue have been revealed.

Key words: long-term cultivation, cytogenetic stability, figured wood.

К числу современных подходов сохранения *ex situ* ценного генофонда древесных растений относится создание живых коллекций в условиях *in vitro* и их длительное культивирование (долгосрочное хранение). Важным при этом является вопрос о том, как долго можно культивировать пересадочную коллекцию *in vitro* без изменения ее генетической стабильности и ухудшения хозяйственных качеств растений в полевых условиях. Особый интерес подобные исследования представляют для карельской березы (*Betula pendula* Roth var. *carelica* Merkl.), имеющей большую хозяйственную ценность из-за декоративной узорчатой текстуры древесины, но одновременно являющейся сложным объектом, что связано с ее высоким полиморфизмом, выявляемым на всех изучаемых уровнях организации: клеточном, хромосомном, тканевом, организменном. В силу ограниченности генетических ресурсов и низкого уровня естественного возобновления карельская береза оказалась в после-

дние годы под угрозой исчезновения [3]. Ранее нами был предложен подход [4], уменьшающий вероятность возникновения соматической изменчивости при многолетнем культивировании (полное исключение фитогормонов из состава питательных сред), что может обеспечить генетическую стабильность коллекции и способствовать сохранению ценных признаков исходных генотипов.

Объектом исследования послужили растения одного и того же клона Ia узорчатой высокоствольной формы, высаженные в питомник через год, 10 и 11 лет культивирования *in vitro*, а также пробирочные растения в длительной (18 лет) культуре. На момент проведения исследований (2009 год) общий биологический возраст растений составил 18 лет. Регенерация растений проводилась через стеблевые каллусные культуры по способу [1], а длительное субкультивирование микрорастений осуществлялось с интервалом раз в 4-6 месяцев на питательных средах без гормонов по разработанной нами методике [4]. Цитогенетическую стабильность оценивали по частоте патологий митоза (процент клеток с нарушениями в мета-, ана-, телофазе митоза к общему числу просмотренных делящихся клеток) в листовой меристеме и уров-

© Машкина О.С., Табацкая Т.М., 2011

¹ Доклад представлен на Международную конференцию «Интродукция и экология растений, проблемы сохранения биоразнообразия» проходившую 15-20 сентября 2010 г. в Воронежском госуниверситете.

Морфометрическая и цитогенетическая характеристика растений клона Ia разной длительности культивирования *in vitro*

Анализируемые показатели	Длительность культивирования <i>in vitro</i> / возраст растений, лет			
	1 / 17	10 / 8	11 / 7	18/0
Число изученных растений	223	50	50	–
Высота растений, м	9,3±0,04	4,6±0,08	2,4±0,03	–
% низкорослых растений**	0,9	0,0	0,0	–
% многоствольных растений	66,0	0,0	0,0	–
% растений с признаками узорчатой древесины	100,0	48,0	20,0	–
Число делящихся клеток	2625	–	5024	1061
Патологии митоза, % $\bar{X} \pm S\bar{x}$	4,3±0,7	–	1,3±0,1*	1,4±0,2*
Уровень миксоплоидии	25,5±2,6	–	9,4±0,7*	9,6±1,1*

* – различия с исходным клоном (1 год культивирования *in vitro*) достоверны при $P < 0,01$;

** – высота низкорослых растений в 9-летнем возрасте – 1,5-2,7 м.

ню миксоплоидии (процент клеток с числом хромосом, отклоняющимся от модального диплоидного, $2n = 2x = 28$); об узорчатости древесины и степени ее выраженности судили по косвенным показателям; наличию и величине вздутий на внешней поверхности ствола).

Растения исходного клона, высаженные в питомник после одного года культивирования *in vitro*, характеризовались более высокой морфологической и цитогенетической неоднородностью (а, следовательно, и генетической гетерогенностью соматической ткани) по сравнению с растениями длительного (10-18 лет) срока культивирования (таблица). Это может быть связано с клеточной и тканевой селекцией клона каллусного происхождения в процессе его многолетнего культивирования на безгормональной питательной среде. Наряду с типичными по росту растениями, отмечено появление отдельных карликов (с частотой 0,9%) и значительного количества (66%) многоствольных рамет. Ценным свойством явилось раннее (с 3-5 лет), полное (у всех деревьев к 5-8-летнему возрасту) и хорошо выраженное проявление внешних признаков узорчатости древесины (обычно они проявляются позже – в 10-12, а иногда и 20 лет). Анатомическое изучение 3-летних растений-регенерантов, проведенное С. В. Щетинкиным, подтвердило наличие аномальных структур стебля, характерных для узорчатой древесины [5]. После длительного (10, 11 лет) культивирования *in vitro* не отмечено ни одного случая внутриклоновой изменчивости (отсутствуют карлики, все растения клона одноствольные), а также раннего про-

явления внешних признаков узорчатости (первые признаки начали проявляться с 6-7 лет у части рамет). Растения исходного клона были миксоплоидными (74,5±2,5% диплоидных клеток и 25,5±2,6% – анеуплоидных), что в целом характерно для карельской березы [2]. С увеличением длительности культивирования наблюдалось существенное уменьшение уровня миксоплоидии (в 2,7 раза) и частоты патологических митозов (в 3 раза). Причем, только у исходного клона были отмечены случаи появления остаточных ядрышек в метафазе митоза, присутствие которых рассматривают как проявление эпигенетической изменчивости и связано с активностью генов рибосомальных цистронов, обычно ингибированных на этой стадии, что приводит к дополнительному синтезу белков, а, следовательно, и к изменениям белково-ферментного состава.

На основании полученных данных можно высказать предположение о том, что на проявление признака узорчатости древесины у карельской березы существенное влияние оказывает уровень миксоплоидии, гетерогенности соматической ткани, изменяющий их гормональный статус и характер экспрессии генов.

Таким образом, для получения посадочного материала и создания специализированных плантаций с обычным для карельской березы сроком проявления признаков узорчатости, можно использовать длительное (свыше 18 лет) непрерывное культивирование коллекции клонов по предлагаемой нами методике [4]. Для раннего проявления признаков узорчатости древесины у клона каллус-

ного происхождения (что позволит получать ценную древесину в более сжатые сроки) длительность культивирования не должна превышать один-три года. Длительное культивирование в условиях *in vitro* можно рассматривать не только как один из современных подходов сохранения *ex situ* коллекций ценных генотипов карельской березы, но и как удобную модель для изучения природы и механизмов формирования узорчатости древесины, на которые до сих пор нет единого мнения, несмотря на обилие существующих гипотез.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. А. с. 1597386 СССР. Способ микроклонального размножения карельской березы / Г.П. Бутова, Т.М. Табацкая, Л.Л. Скрובה. – опубл. 7.10.90, Бюл. №37.

Машкина Ольга Сергеевна
кандидат биологических наук, доцент кафедры генетики, цитологии и биоинженерии биолого-почвенного факультета Воронежского государственного университета, г. Воронеж, т. 8 (4732) 20-88-76, E-mail: olga_mashkina@yahoo.com

Табацкая Татьяна Михайловна
научный сотрудник НИИ лесной генетики и селекции, г. Воронеж, т. 8 (4732) 539481, E-mail: ilgis@lesgen.vrn.ru

2. Буторина А.К. О природе узорчатости древесины у карельской березы / А.К. Буторина // Генетические и экологические основы повышения продуктивности лесов. – Воронеж: НИИЛГиС, 1993. – С. 40-47.

3. Ветчинникова Л.В. Карельская береза и другие редкие представители рода *Betula* L. / Л.В. Ветчинникова. – М.: Наука, 2005. – 269 с.

4. Машкина О.С. Длительное микрочеренкование для массового клонального размножения карельской березы и тополя / О.С. Машкина, Т.М. Табацкая, Л.М. Стародубцева // Физиология растений. – 1999. – Т. 46, №6. – С. 950-953.

5. Табацкая Т.М. Технология *in vitro* в создании плантационных культур карельской березы / Т.М. Табацкая, О.С. Машкина, С.В. Щетинкин // Генетика и селекция – на службе лесу: материалы Междунар. науч.-практ. конф. – Воронеж, 1997. – С. 63-66.

Mashkina Ol'ga Sergeevna
Candidate of Biology, assistant professor of genetics, cytology and Bioengineering, Biology and Soil Sciences, Voronezh State University, Voronezh, tel. 4732) 20-88-76, E-mail: olga_mashkina@yahoo.com

Tabatskaya Tat'yana Mikhailovna
Scientific Research of the Institute of Forest Genetics and Breeding, Voronezh, tel. 8 (4732) 539481, E-mail: ilgis@lesgen.vrn.ru