

УДК 135.9:602.6:58

ПОДБОР УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ДЛЯ ВВЕДЕНИЯ *IN VITRO* ТОПОЛЯ СЕРЕБРИСТОГО (*POPULUS ALBA L.*) И ТОПОЛЯ БОЛЛЕ (*POPULUS BOLLEANA L.*)

Каримова В.К., Магзумова Г.К., Какимжанова А.А.

Национальный центр биотехнологии
ул. Ш. Валиханова, 13/1, Астана, 010000, Казахстан
kakimzhanova@biocenter.kz

АБСТРАКТ

В результате проведенных исследований введены *in vitro* тополь серебристый (*Populus alba L.*) и тополь Болле (*Populus bolleana L.*). Для этого оптимизированы режимы стерилизации эксплантов, подобран состав питательной среды Мурасиге и Скуга для культивирования пазушных почек, выбран температурный режим для получения микропобегов.

Для введения в культуру *in vitro* пазушных почек мужских экземпляров тополя серебристого и тополя Болле подобран вариант 1 ступенчатой стерилизации (Твин-20 и 90% «Белизна», время экспозиции 20 минут) эксплантов двух видов тополей. Культивировано 679 пазушных почек тополя серебристого и тополя Болле на питательную среду Мурасиге и Скуга, количество жизнеспособных эксплантов составило 488 (71,9%).

Для культивирования пазушных почек тополя *Populus alba L.*, тополя *Populus bolleana L.* оптимизирована питательная среда Мурасиге и Скуга (вариант 1) с добавлением фитогормонов: кинетин – 0,25 мг/л, индолилуксусная кислота – 0,25 мг/л.

Для получения микропобегов *in vitro* подобран температурный режим культивирования. При сравнении трех температурных режимов (8°C, 22°C, 28°C) активный рост пазушных почек двух видов тополей отмечен при 22°C.

Ключевые слова: тополь серебристый, тополь Болле, пазушные почки, питательная среда, *in vitro*.

CULTIVATION CONDITIONS FOR THE INTRODUCTION OF *IN VITRO* CULTURES OF *POPULUS ALBA L.* AND *POPULUS BOLLEANA L.* POPLARS

Karimova V.K., Magzumova G.K., Kakimzhanova A.A.

National Center for biotechnology
13/1 Valikhanova str., Astana, 010000, Kazakhstan
kakimzhanova@biocenter.kz

ABSTRACT

In vitro studies of *Populus alba L.* and *Populus bolleana L.* poplars were performed to optimize the mode of sterilization of explants, determine the composition of the culture medium for the cultivation of Murashige and Skoog (MS) axillary buds, and select the ideal temperatures for the microshoots.

In order to produce *in vitro* cultures of the bosom buds of male *Populus alba L.* and *Populus bolleana L.* poplars, a sterilization method (Tween-20 and 90% Belizna solution treatment for 20 min) of explants of the two poplar species was selected. Of the 679 axillary buds of poplar and silver Bolle that were cultivated on MS nutrient medium, the number of viable explants was 488 (71.9%).

For the cultivation of the axillary buds of *Populus alba L.* and *Populus bolleana L.*, a cultivation medium consisting of MS medium and the plant phytohormones kinetin (0.25 mg/L) and indole acetic acid (0.25 mg/L) was used.

For the *in vitro* cultivation of microshoots, a temperature regimen was selected. The comparison of three temperatures (8°C, 22°C, and 28°C) showed active growth of the bosom buds of the two poplar species at 22°C.

Keywords: *Populus alba L., Populus bolleana L., bosom buds, cultivation medium, in vitro.*

ВВЕДЕНИЕ

Климат Северного Казахстана отличается контрастностью и засушливостью. Почвы суглинистые, отличаются разнообразием каменистых включений в основном светло- и темно-каштановые с повышенным засолением. В связи с этим прямое укоренение сеянцев черенков в почве сопряжено с большими затратами и высокой гибелью саженцев. Ускорение, размножение наиболее адаптированных форм тополя позволит практически внести научный вклад в выполнение намеченных государством задач «Зеленой зоны Астаны».

Создание «Зеленой зоны Астаны» является частью большого проекта архитектурного и биосферного развития столицы для улучшения микроклимата столицы, и заботы о здоровье и благосостоянии горожан. Активная интродукция тополя в степной биоценоз показала благотворное влияние этой культуры на климат столицы. При благоустройстве и озеленении экологически неблагоприятных территорий тополя высаживаются различными группами и композициями в парках и скверах, а также комбинациями рядов на улицах вдоль проезжей части, фасадов зданий. Каждый год для озеленения города Астаны высаживаются от 20 до 40 тыс. деревьев и кустарников, из которых саженцы тополя составляют около 30%.

Сложные природно-климатические условия нашего региона требуют тщательного соблюдения рекомендаций по созданию и содержанию зеленых насаждений. Обеспечение приживаемости и дальнейшего сохранения зеленых насаждений напрямую зависит от качества посадочного материала, правильности соблюдения технологии посадки, своевременного проведения работ (полив, внесение удобрений, защита от вредителей и болезней и др.).

Одним из наиболее радикальных методов решения этой проблемы является широкое внедрение в состав посадок быстрорастущих и хозяйственно-ценных видов. Среди них одно из первых мест принадлежит видам рода тополь (*Populus*), которые отличаются быстротой роста и скороспелостью. Все виды тополя являются листовыми, быстрорастущими, имеют сравнительно небольшую продолжительность жизни, влаголюбивы, как правило, не переносят затенения и имеют средний или высокий рост.

Легкость размножения, скорость роста и неприхотливость обеспечили им популярность в качестве декоративного и ветрозащитного растения, покрывающего большие территории и имеющего небольшой период воспроизводства. Тополь применяется в благоустройстве и озеленении городов и населенных пунктов, где они, обладая сильным ростом, быстро создают защитный эффект. Все это придает видам рода *Populus* первостепенное значение и требует большего внимания к их селекции, разведению и выращиванию в республике Казахстан [1].

Для озеленения города Астаны и близлежащих районов с учетом имеющихся сложных почвенно-климатических условий предусматривается посадка и размножение тополя серебристого и тополя Болле. Ценным качеством двух видов декоративных тополей является достаточная устойчивость против дыма и газов, способность обогащать воздух фитонцидами и убивать болезнетворные микробы. Также их выращивают для укрепления берегов рек и водоемов благодаря мощной корневой системе и обилию корневых отпрысков. Они являются зимостойкими, относительно засухо- и газоустойчивыми, светолюбивыми, жароустойчивыми, ветроустойчивыми.

Несмотря на преимущества двух видов тополей, есть недостатки при выращивании для озеленения экологически неблагоприятных территорий. Появилась проблема гибели взрослых деревьев тополя серебристого из-за поражения грибными и вирусными болезнями, что требует постоянного восстановления зеленого облика посадок. Введение в культуру *in vitro* тополя серебристого позволит оздоровить посадочный материал.

У тополя Болле (*Populus bolleana L.*) стеблевые черенки в почве трудно укореняются. Для выращивания более трудноукореняющихся разновидностей требуются более интенсивные процедуры укоренения, это использование свежесрезанного материала, микроклонального размножения и применение гормонов для укоренения. Наиболее важными регуляторами роста корневой системы являются ауксины и цитокинины. В качестве ауксинов и цитокининов в питательную среду для тополя использовали БАП (бензилоаминопурин), кинетин, гибберелловая кислота. Эти гормоны регулируют развитие и поддержание корневых верхушечных меристем и другие процессы роста растений [2].

Быстро растущие тополя широко используются в разных климатических зонах для стабилизации почвы и для уменьшения загрязняющихся веществ, пыли в воздухе [3]. Интенсивное выращивание (в культуре *in vitro*, в теплицах, в открытом грунте с применением биостимуляторов) в масштабном количестве качественного, селекционно-улучшенного, сортового посадочного материала тополя позволит в короткие сроки осуществить озеленение и создание различного типа защитных насаждений для восстановления антропогенно нарушенных почвенных и водных систем.

В связи с этим применение современных технологий для массового размножения, таких как клональное микроразмножение растений является актуальным для трудноукореняющегося тополя Болле (*Populus bolleana L.*) и восприимчивого к болезням тополя серебристого (*Populus alba L.*) [4].

Успех введения в культуру *in vitro* часто определяется эффективностью стерилизации. Стерилизация тканей, вводимых в культуру, обеспечивает оздоровление посадочного материала. Выбор стерилизующего агента определяется особенностями экспланта. Метод клонального микроразмножения *in vitro* дает возможность размножить растения, которые с трудом или совсем не размножаются вегетативно. Достижения в области культуры клеток и тканей привели к созданию принципиально новых методов вегетативного размножения, таких как получение стерильной культуры, мультипликация побегов *in vitro*, образование корней, адаптация пробирочных растений *in vivo* [5, 6, 7]. Проведены сравнительные исследования по размножению методом культуры тканей 48 клонов *P. tremula*, *P. tremuloides* и их гибридов различного уровня ploидности. Показано, что образование у эксплантов побегов и корней зависит от места взятия материала (почек, стебля, листьев) на дереве [8]. Путем использования в качестве эксплантов покоящихся почек были размножены виды и гибриды тополя [9, 10, 11].

Клональное микроразмножение тополя начинается со ступенчатой стерилизации эксплантов, культивированием пазушных меристем, зеленых верхушек с 3-5 распустившимися листочками, индукцией путем прямого органогенеза, массовым развитием микропобегов, укоренением микропобегов в питательной среде, адаптацией и размножением в теплице микропобегов, выращиванием и размножением сеянцев в полевых питомниках.

Таким образом клональное микроразмножение тополя дает возможность ускорить процесс селекции, массово размножить трудноукореняемые виды растений, круглый год получать зеленые сеянцы и сохранить ценные генотипы тополя.

Целью исследований являлось введение *in vitro* тополя серебристого (*Populus alba l.*) и тополя Болле (*Populus bolleana l.*) для получения пробирочных микропобегов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объектов исследований для микроклонального размножения использовали мужские экземпляры тополя серебристого и тополя Болле. Для введения *in vitro* тополя серебристого и тополя Болле использовали растительный материал, предоставленный сотрудниками АО «Астана-Зеленстрой» из дендрологического сада. Исходным материалом служили пазушные почки размером 0,5-1,0 см одно-двухлетних побегов тополя серебристого (*Populus alba L.*) и тополя Болле (*Populus bolleana L.*).

Для получения саженцев двух видов тополей использовали следующие методы: стерилизация и введение пазушных почек в культуру *in vitro*, подбор питательных сред для получения меристем, получение меристем, получение микропобегов *in vitro*. Применяли стандартные протокола: культивирование эксплантов, приготовление питательных сред по Калинину Ф.Л. и др. (1980), Калашниковой Е.А. и др. (2006) [12, 13].

Для получения культуры тканей и органов, свободных от инфекций, применяли ступенчатую стерилизацию (таблица 1). Пазушные почки с кусочком стебля промывали мыльным раствором, ставили под проточную воду в течение 2 часов и погружали при постоянном помешивании на 20 мин в дистиллированную воду с детергентом «Твин-20» (Tween 20, вязкая жидкость, монолаурат полиоксиэтиленсорбитан). Затем помещали на 20 мин в раствор хлорсодержащего реагента «Белизна» (активный хлор 2,8%, гидроксид натрия 2,0%). По окончании стерилизации пазушные почки трижды промывали стерильной дистиллированной водой. Далее удаляли все покровные чешуи и листья, оставляя два наиболее глубоко расположенных листочка, которые вычленили и помещали в питательную среду в ламинар-боксе.

Таблица 1. Варианты режимов ступенчатой стерилизации для введения *in vitro* пазушных почек тополя серебристого и тополя Болле

Table 1. Tested variants of the method of step sterilization for the introduction into the *in vitro* cultures of bosom buds of *Populus alba L.* and *Populus bolleana L.*

Этапы Steps	1 вариант стерилизации 1-st variant	2 вариант стерилизации 2-nd variant	3 вариант стерилизации 3-rd variant	4 вариант стерилизации 4-th variant
1	Промывка мыльным раствором Wash with soap solution	Промывка мыльным раствором Wash with soap solution	Промывка мыльным раствором Wash with soap solution	Промывка мыльным раствором Wash with soap solution
2	2 часа под проточной водой 2 hours under running water			
3	20 минут в 100 мл дистиллированной воды с 2 каплями	20 минут в 100 мл дистиллированной воды с 2 каплями	-	-

	Твин-20 20 minutes in 100 ml of distilled water with addition of 2 drops of Tween-20	Твин-20 20 minutes in 100 ml of distilled water with addition of 2 drops of Tween-20		
4	-	-	30 секунд в 70% спирте 30 seconds in 70% ethanol	30 секунд в 70% спирте 30 seconds in 70% ethanol
5	20 минут в 90% «Белизна» 20 minutes in 90% solution of 'Belizna'	20 минут в 70% «Белизна» 20 minutes in 90% solution of 'Belizna'	20 минут в 90% «Белизна» 20 minutes in 90% solution of 'Belizna'	20 минут в 70% «Белизна» 20 minutes in 90% solution of 'Belizna'
6	Промывка стерильной дистиллированной водой 3 раза Three washes with sterile distilled water	Промывка стерильной дистиллированной водой 3 раза Three washes with sterile distilled water	Промывка стерильной дистиллированной водой 3 раза Three washes with sterile distilled water	Промывка стерильной дистиллированной водой 3 раза Three washes with sterile distilled water

Для культивирования пазушных почек одно-двухлетних побегов тополя серебристого *Populus alba L.* и тополя Болле *Populus bolleana L.* подбирали варианты питательных сред, где за основу использовали питательную среду Мурасиге и Скуга (таблица 2).

Таблица 2. Варианты питательных сред для культивирования пазушных меристем тополя серебристого и тополя Болле

Table 2. Variants of culture media for cultivation of meristems of *Populus alba L.* and *Populus bolleana L.*

Компоненты питательной среды Components of culture medium	Концентрация, мг/л Concentration, mg/l			
	1 вариант 1 variant	2 вариант 2 variant	3 вариант 3 variant	4 вариант 4 variant
	Макросоли Macrosalts	50,0	50,0	50,0
Микросоли Microsalts	1,0	1,0	1,0	1,0
Fe-хелат Fe-chelate	5,0	5,0	5,0	5,0

CaCl ₂ ·2H ₂ O	440,0	440,0	440,0	440,0
Гидролизат казеина	1000,0	1000,0	1000,0	1000,0
Casein hydrolysate				
Мезоинозит	100,0	100,0	100,0	100,0
Myo-inositol				
Тиамин	1,0	0,5	1,0	1,0
Thiamine				
Пиридоксин	1,0	0,5	1,0	1,0
Pyridoxine				
Никотиновая кислота	2,0	1,0	2,0	1,0
Nicotinic acid				
Кинетин	0,25	-	0,25	-
Kinetin				
ИУК	0,25	-	-	0,5
IAA				
Сахароза	30000,0	30000,0	30000,0	30000,0
Saccharose				
Глицин	-	2,0	-	-
Glycine				
Аскорбиновая кислота	-	1,0	-	-
Ascorbic acid				
Агар	7000,0	7000,0	7000,0	7000,0
Agar				

Культивировали пазушные почки и микропобеги в климатической камере «BINDER KBWF 720» с 16-часовым световым режимом, освещенностью 5-6 тыс. люкс, температурой 22°C, влажностью 70%.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

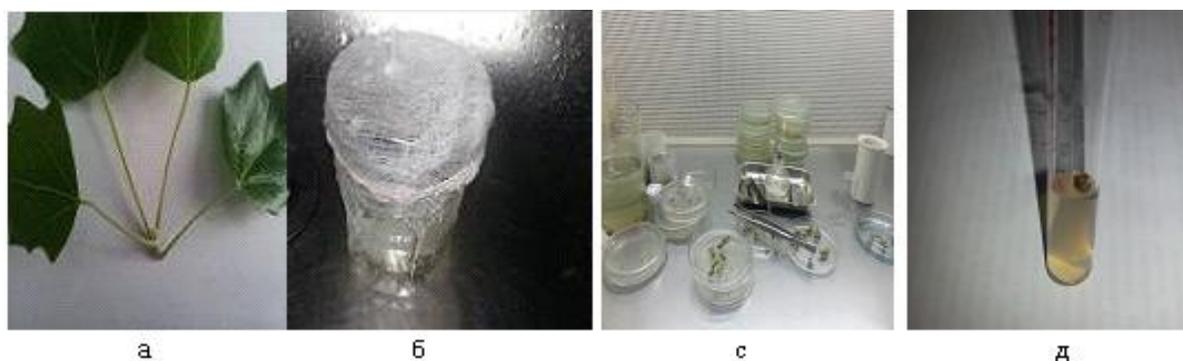
Подбор режимов стерилизации для введения in vitro пазушных почек тополя серебристого и тополя Болле

Одним из важных этапов введения в культуру *in vitro* мужских экземпляров тополя серебристого *Populus alba L.* и тополя Болле *Populus bolleana L.* является стерилизация пазушных почек. Для получения верхушечной меристемы тополя серебристого и тополя Болле культивировано 679 пазушных почек. Выделенные пазушные почки с кусочком стебля размером 0,5-1,0 см двух видов тополей стерилизовали в разных концентрациях дезинфицирующего раствора (рисунок 1).

Для этого подобрали 4 варианта стерилизации, которые отличались между собой количеством, концентрацией стерилизующих растворов детергента «Твин-20» (Tween 20, вязкая жидкость, монолаурат полиоксиэтиленсорбитан), хлорсодержащего реагента

«Белизна» (активный хлор 2,8%, гидроксид натрия 2,0%) и этилового спирта (таблица 1). Для стерилизации пазушных меристем в первом и во втором варианте использовали детергент Твин-20, а в третьем и четвертом вариантах вместо этого применяли 70% этиловый спирт в течение 30 секунд.

В первом и третьем вариантах опыта для стерилизации пазушных меристем двух видов тополей использовали коммерческую «Белизну» в концентрации 90%, во втором и четвертом вариантах применяли 70%-ную, время экспозиции составило 20 минут.



а – зеленые верхушки с 3-5 распустившимися листочками; б – промывка проточной водой пазушных почек; с – стерилизация пазушных почек; д – культивирование пазушных почек на питательной среде МС

Рис. 1. Стерилизация и культивирование пазушных почек двух видов тополей

а – green apices with 3-5 leaves; б – washing with running water of bosom buds; с – sterilization of bosom buds; д – cultivation of bosom buds on a culture medium MS

Fig. 1. Sterilization and cultivation of bosom buds of two species of poplar

Для выявления эффективного подбора ступенчатой стерилизации высаживали пазушные меристемы на питательную среду Мурасиге и Скуга, которые затем культивировали в климатической камере. Наблюдения за выходом жизнеспособных неинфицированных эксплантов тополя проводили в течение 14 дней.

Как видно из рисунка 2, при подборе ступенчатой стерилизации у тополя серебристого наибольший процент жизнеспособных эксплантов наблюдали на вариантах 1 и 2, процент выхода составил 68,8% (1 вариант) и 53,7% (2 вариант). Низкий процент жизнеспособных эксплантов был на варианте 4 – 37,5%. Также у тополя Болле наибольший процент жизнеспособных эксплантов наблюдали на варианте 1 – 75%, на варианте 2 – 56,3%.

После подбора эффективной стерилизации (вариант 1) эксплантов двух видов тополей культивировано 679 пазушных почек тополей серебристого и Болле на питательную среду МС, количество жизнеспособных эксплантов составило 488 (71,9%).

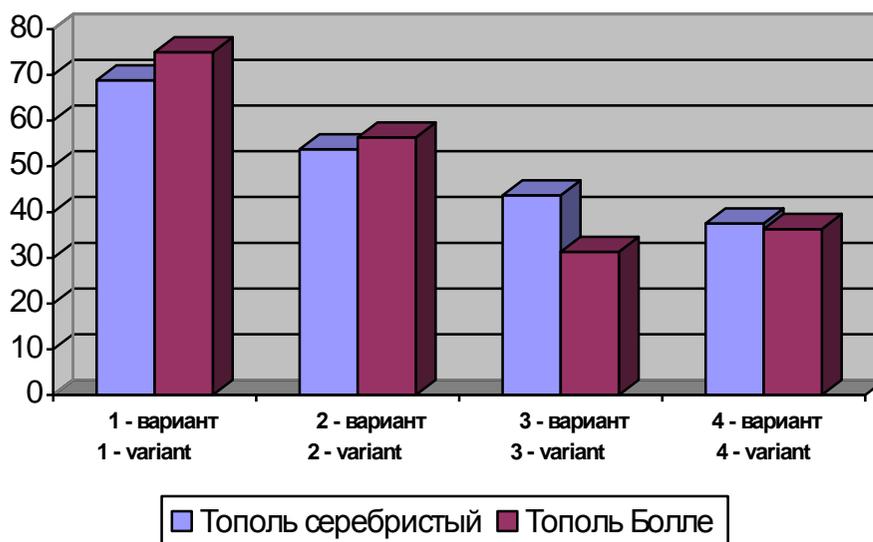


Рис. 2. Выход жизнеспособных эксплантов тополя (%) при использовании различных вариантов стерилизации

Fig. 2. Yield poplar viable explants (%) using different variants sterilization

Таким образом, из подобранных 4-х вариантов стерилизации для введения в культуру *in vitro* пазушных почек высокий процент жизнеспособных эксплантов наблюдали на варианте 1 по тополи Болле – 75%, по тополи серебристому – 68,8%, который отличался от других вариантов тем, что использовали детергент Твин-20 и 90% «Белизну». Следовательно, 1 вариант (Твин-20 и 90% «Белизна», время экспозиции 20 минут) оказался наиболее эффективным для выхода жизнеспособных неинфицированных эксплантов, что составило 71,9%.

Оптимизация состава питательных сред для культивирования пазушных почек одно-двухлетних побегов тополей

В результате исследований для увеличения роста пазушных почек одно-двухлетних побегов тополя серебристого (*Populus alba L.*) и тополя Болле (*Populus bolleana L.*) подбирали варианты питательных сред, за основу использовали среду Мурасиге и Скуга. Для подбора состава питательной среды высаживали в каждом варианте по 20 пазушных почек размером 0,5 см. Через 4-5 недель при соответствующей температуре, освещении наблюдали рост пазушных меристем с увеличением числа листьев.

Подобранные четыре варианта питательных сред для культивирования пазушных меристем отличались между собой по количеству и составу витаминов – тиамин, пиридоксин, глицин, аскорбиновая кислота, по количеству и составу фитогормонов – кинетин, ИУК (таблица 2). Используемые гормоны для роста пазушных почек тополей соответствовали работам других авторов [2, 14]. Noël N. et al. (2002) с соавторами, изучая оптимизацию условий культивирования, отметили, что регенерация шести сортов тополей через каллусные ткани лучше идет при добавлении в питательную среду МС кинетина с тиадазуроном в различных концентрациях в зависимости от генотипа [2].

При изучении прямого органогенеза четырех видов тополей ученые из Турции Cavusoglu A. et al (2011) установили, что высокий процент роста пазушных почек (100%) наблюдали при добавлении одновременно в среду цитокининов и ауксинов [14].

При сравнении 4-х вариантов среды на 35-й день культивирования отмечен активный рост верхушечных побегов на варианте В-1, по тополи серебристому средняя высота

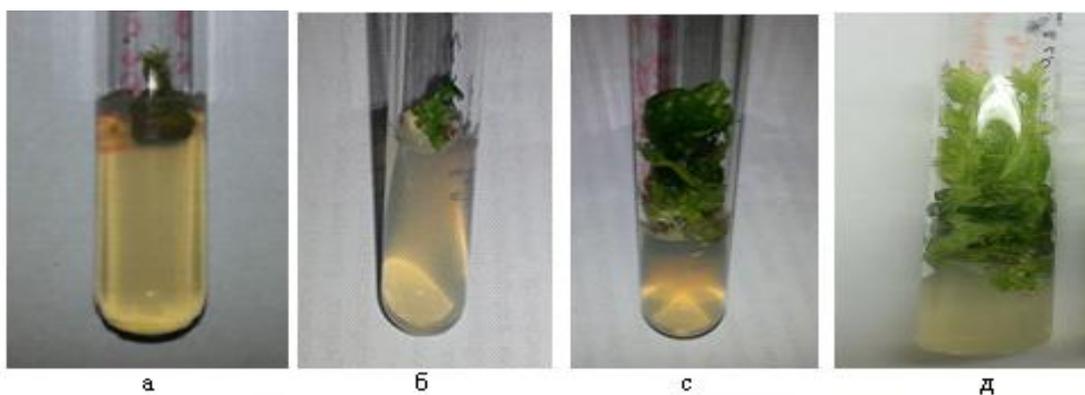
роста пазушных почек составила 4,0 см, по тополи Болле – 4,5 см (таблица 3, рисунок 3). Этот вариант питательной среды МС отличался тем, что добавляли одновременно гормоны: кинетин – 0,25 мг/л и ИУК – 0,25 мг/л. Низкий рост верхушечных меристем наблюдали на варианте В-4, где по тополи серебристому составил 2,2 см, по тополи Болле – 2,4 см. В этом варианте использовали ИУК – 0,5 мг/л.

Обобщив полученные данные, можно сказать, что для активного роста пазушных почек *Populus alba L.*, *Populus bolleana L.* подобрана питательная среда МС с использованием фитогормонов: кинетин – 0,25 мг/л, ИУК – 0,25 мг/л.

Таблица 3. Влияние состава питательных сред на рост пазушных меристем тополя

Table 3. Influence of culture media on the growth of axillary meristems poplar

Вариант среды Variant of medium	Рост пазушных почек (см) Height bosom buds (cm)					
	1-й день 1-th day	7-й день 7-th day	14-й день 14-th day	21-й день 21-th day	28-й день 28-th day	35-й день 35-th day
Тополь серебристый <i>Populus alba L.</i>						
В-1 V-1	0,5	1,4±0,05	2,1±0,13	2,9±0,09	3,4±0,11	4,0±0,09
В-2 V-2	0,5	1,3±0,02	1,7±0,09	2,1±0,10	2,4±0,14	2,8±0,09
В-3 V-3	0,5	1,1±0,06	1,3±0,08	1,6±0,09	2,2±0,09	2,5±0,11
В-4 V-4	0,5	1,2±0,07	1,3±0,05	1,4±0,19	2,0±0,14	2,2±0,16
Тополь Болле <i>Populus bolleana L.</i>						
В-1 V-1	0,5	1,4±0,07	2,4±0,11	3,2±0,10	3,8±0,09	4,5±0,02
В-2 V-2	0,5	1,3±0,05	1,7±0,07	2,3±0,12	2,7±0,09	3,3±0,12
В-3 V-3	0,5	1,1±0,04	1,5±0,12	1,8±0,11	2,4±0,14	2,8±0,10
В-4 V-4	0,5	1,0±0,07	1,4±0,09	1,6±0,21	2,1±0,18	2,4±0,18



а – 7-й день культивирования; б – 14-й день культивирования; с – 21-й день культивирования; д – 35-й день культивирования

Рис. 3. Рост пазушных меристем тополя на питательной среде МС

a – 7-th day of cultivation; b – 14-th day of cultivation; c – 21-th day of cultivation; d – 35-th day of cultivation

Fig. 3. Height of meristems of poplar on a culture medium MS

Подбор температурного режима для получения микропобегов тополя

Вторым этапом клонального размножения является получение микропобегов. Важную роль играют сортовые и видовые особенности размножаемого растения, физиологическое состояние экспланта, его происхождение, состав питательной среды, физические условия культивирования.

Для получения микропобегов *in vitro* подбирали температурный режим культивирования. Температура совместно с фотопериодом является фактором регулирования бутона покоя тополя.

В данной работе нам очень важно было подобрать температурный режим для активного роста пазушных меристем. В связи с этим подобрали следующие температуры: 8°C, 22°C, 28°C, с 70%-ной влажностью воздуха и 16-часовым фотопериодом для активного роста пазушных меристем. Провели через 7, 14 и 21 день измерение роста пазушных меристем после культивирования на питательную среду МС (рисунок 4).

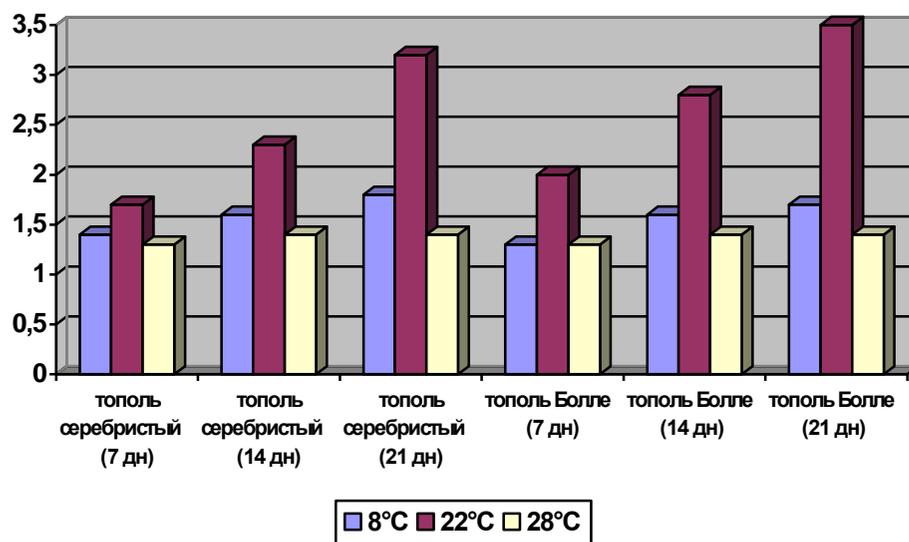


Рис. 4. Изучение температурного режима для роста пазушных меристем тополя

Fig. 4. The study of temperature for the growth of axillary meristems poplar

Активный рост пазушных почек тополя серебристого и тополя Болле начался на 7-й день культивирования при температуре 22°C, по тополию серебристому составил 1,7 см, по тополию Болле – 2,0 см. Слабый рост пазушных почек наблюдали при повышенной температуре 28°C, на 21-й день культивирования по двум видам тополя прирост составил 0,9 см. При повышении температуры до 28°C наблюдали потемнение, высыхание растительной ткани (рисунок 5), что подтверждается работами других авторов [15]. Kalcsits L. et al. (2009) изучили в природных условиях воздействие температуры на развитие роста верхушечных почек у четырех гибридных тополей, у каждого клона наблюдали фенологические изменения при увеличении температуры [16].

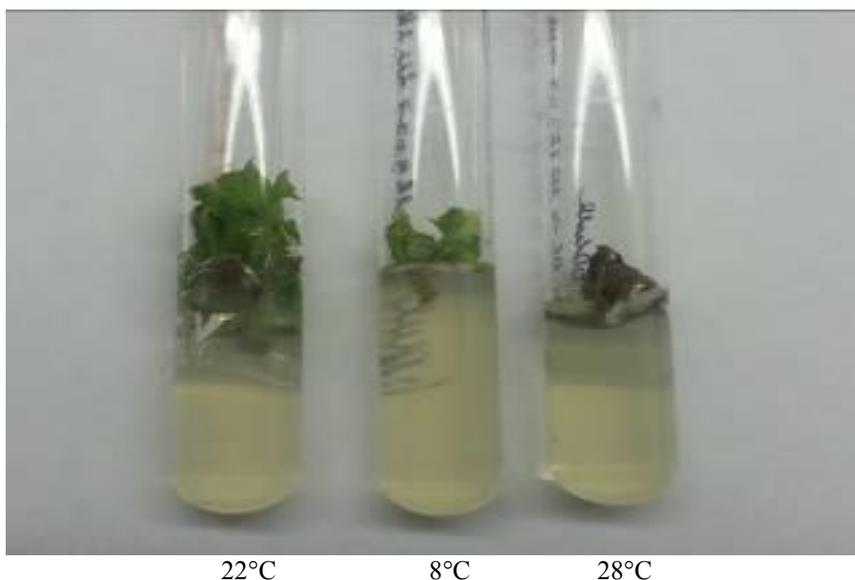


Рис. 5. Рост пазушных меристем тополя в зависимости от температуры выращивания

Fig. 5. Growth of axillary meristems poplar depending on the growth temperature

При сравнении трех температурных режимов на 21-й день культивирования лучший рост пазушных почек наблюдали при 22°C, по тополию серебристому составил 3,2 см, по тополию Болле – 3,5 см. Проведенный нами эксперимент показал, что для получения микропобегов лучше культивировать пазушные меристемы при 22°C, 70%-ной влажности воздуха и 16-часовом фотопериоде.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в результате проведенных исследований ввели *in vitro* тополь серебристый (*Populus alba l.*) и тополь Болле (*Populus bolleana l.*). Для этого оптимизировали режимы стерилизации эксплантов, выбрали состав питательной среды МС для культивирования пазушных почек, выбрали температурный режим для получения микропобегов.

Для введения в культуру *in vitro* пазушных почек мужских экземпляров тополя серебристого и тополя Болле подобран вариант 1 ступенчатой стерилизации (Твин-20 и 90% «Белизна», время экспозиции 20 минут) эксплантов двух видов тополей. Культивировано 679 пазушных почек тополя серебристого и тополя Болле на

питательную среду МС, где количество жизнеспособных эксплантов составило 488 (71,9%).

Для культивирования пазушных почек тополя *Populus alba* L., тополя *Populus bolleana* L. оптимизирована питательная среда МС (вариант 1) с добавлением фитогормонов: кинетин – 0,25 мг/л, индолилуксусная кислота (ИУК) – 0,25 мг/л.

Для получения микропобегов *in vitro* подбирали температурный режим культивирования. При сравнении трех температурных режимов (8°C, 22°C, 28°C) активный рост пазушных почек двух видов тополей отмечен при 22°C.

Финансирование

Работа выполнена в рамках проекта О.0659 «Разработка и внедрение технологии микрклонального размножения мужских экземпляров тополя (*Populus*) для промышленного использования в озеленении экологически неблагоприятных территорий» по программе «Промышленные биотехнологии» на 2014-2016 гг.

ЛИТЕРАТУРА

1. Жумагулов Ж. Озеленение населенных пунктов: состояние, проблемы создания и содержания зеленых насаждений // <http://zelenstroj.kz>. 2011.
2. Noel N., Leple J.C., Pilate G. Optimization of *in vitro* micropropagation and regeneration for *Populus* × *interamericana* and *Populus* × *euramericana* hybrids (*P. deltoides*, *P. trichocarpa*, and *P. nigra*) // *Plant Cell Reports*. – 2002. – Vol. 20. – P. 1150-1155.
3. Salah K. Effect of Different Media and Growth Regulators on the *in vitro* Shoot Proliferation of Aspen, Hybrid Aspen and White Poplar Male Tree and Molecular Analysis of Variants in Micropropagated Plants // *Life Science Journal*. – 2011. – Vol. 8. – P. 177-184.
4. Эрст А.А., Бакулин В.Т. Клональное микроразмножение тополя сибирского серебристого // *Turczaninowia*. – 2012. – №15(1). – С. 58-62.
5. Наарала Т., Pakkanen A., Pulkkinen P. Variation in survival and growth of cuttings in two clonal propagation methods for hybrid aspen (*Populus tremula* × *P. tremuloides*) // *Forest Ecol. and Management*. – 2004. – Vol. 193, №3. – P. 345-354.
6. Maheshwari P., Kovalchuk I. Efficient shoot regeneration from intermodal explants of *Populus angustifolia*, *Populus balsamifera* and *Populus deltoides* // *New Biotech*. – 2011. – Vol. 28, №6. – P. 778-787.
7. Лебедев В.Г., Булатова И.В., Шадрина Т.Е. и др. Применение методов биотехнологии для повышения продуктивности лесных культур // *Лесохозяйственная информация*. – 2008. – №3. – С. 28-29.
8. Ahuja M.R. Somatic cell differentiation and rapid clonal propagation of aspen // *Silvae Genetica*. – 1983. – Vol. 3, №3. – P. 131-135.
9. Ahuja M.R. *In vitro* propagation of poplar and aspen // *Cell and tissue culture in forestry*. – 1987. – Vol. 3. – P. 207-223.
10. Dirr M.A., Heuser C.W. The reference manual of woody plant propagation: from seed to tissue culture // *Varsity Press*, Athens, GA. – 1987. – 239 p.
11. Frohlich H.J., Weisgerber H. Research on *in vitro* techniques within the framework of poplar breeding – results and future trends // *Silvae Genetica*. – 1985. – Vol. 34. – P. 134-137.
12. Калинин Ф.Л., Кушнир Г.П., Сарнацкая В.В. Технология микрклонального размножения растений. – Киев: Наукова думка, 1992. – 232 с.

13. Калашникова Е.А., Родин А.Р. Получение посадочного материала древесных, цветочных и травянистых растений с использованием методов клеточной и генной инженерии. – М.: Учебное пособие, 2001. – 122 с.

14. Cavusoglu A., Ipekci-Altas Z., Bajrovic K., Gozukirmizi N. and Zehir A. Direct and indirect plant regeneration from various explants of eastern cottonwood clones (*Populus deltoides Bartram ex Marsh.*) with tissue culture // *African Journal of Biotechnology*. – 2011. – Vol. 10(16). – P. 3216-3221.

15. Kaňuchová A., Ďurkovič J. Wood ontogeny during ex vitro acclimatization in micropropagated hybrid poplar clones // *Biologia plantarum*. – 2013. – Vol. 57(1). – P. 144-148.

16. Kalcsits L., Silim Ж., Tanino Ж. Warm temperature accelerates short photoperiod-induced growth cessation and dormancy induction in hybrid poplar (*Populus x spp.*) // *Trees*. – 2009. – Vol. 23. – P. 971-979.

REFERENCES

1. Zhumagulov J. Ozelenenie naseleennykh punktov: sostoyanie, problemy sozdaniya i sodержaniya zelenykh nasazhdeniy [Greening settlements: status, problems establishing and maintaining green spaces]. Available at: <http://www.zelenstroj.kz>. 2011.

2. Noel N., Leple J.C., Pilate G. Optimization of in vitro micropropagation and regeneration for *Populus × interamericana* and *Populus × euramericana* hybrids (*P. deltoides*, *P. trichocarpa*, and *P. nigra*). *Plant Cell Reports*, 2002, vol. 20, pp. 1150-1155. [http: doi: 10.1007](http://doi:10.1007).

3. Salah K. Effect of Different Media and Growth Regulators on the in vitro Shoot Proliferation of Aspen, Hybrid Aspen and White Poplar Male Tree and Molecular Analysis of Variants in Micropropagated Plants. *Life Science Journal*, 2011, vol. 8, pp. 177-184.

4. Erst A.A., Bakulin V.T. Klonalnoe mikrorazmnozhenie topolya sibirskogo serebristogo [Clonal micropropagation of poplar of Siberian silvery]. *Turczaninowia*, 2012, no. 15(1), pp. 58-62.

5. Haapala T., Pakkanen A., Pulkkinen P. Variation in survival and growth of cuttings in two clonal propagation methods for hybrid aspen (*Populus tremula × P. tremuloides*) / *Forest Ecol. and Management*, 2004, vol. 193, no. 3, pp. 345-354. [http: doi: 10.1016](http://doi:10.1016).

6. Maheshwari P., Kovalchuk I. Efficient shoot regeneration from intermodal explants of *Populus angustifolia*, *Populus balsamifera* and *Populus deltoids*. *New Biotech*, 2011, vol. 28, no. 6, pp. 778-787. [http: doi: 10.1016](http://doi:10.1016).

7. Lebedev V.G., Bulatova I.V., Shadrina T.E. Primenenie metodov biotekhnologii dlya povyshenie produktivnosti lesnykh kultur [Shadrina t.e. and other Application of methods of biotechnology for the increase of the productivity of forest cultures of]. *Lesohozjajstvennaja informacija - Forestry information*, 2008, no. 3, pp. 28-29.

8. Ahuja M.R. Somatic cell differentiation and rapid clonal propagation of aspen. *Silvae Genetica*, 1983, vol. 3, no. 3, pp. 131-135.

9. Ahuja M.R. In vitro propagation of poplar and aspen. *Cell and tissue culture in forestry*, 1987, vol. 3, pp. 207-223.

10. Dirr M.A., Heuser C.W. The reference manual of woody plant propagation: from seed to tissue culture. *Varsity Press, Athens, GA*, 1987, 239 p. [http: doi: 689004](http://doi:689004).

11. Frohlich H.J., Weisgerber H. Research on in vitro techniques within the framework of poplar breeding – results and future trends. *Silvae Genetica*, 1985, vol. 34, pp. 134-137. [http: doi: 19860608327](http://doi:19860608327).

12. Kalinin F.L., Kushnir G.P., Sarnackaya V.V. Tekhnologiya mikroklonalnogo razmnozheniya rasteniy [*Technology of micropropagation and reproduction of plants*]. K.: Publishing House Naukova Dumka, 1992, 232 p.

13. Kalashnikova E.A., Rodin A.R. Poluchenie posadochnogo materiala drevesnykh, thevetochnykh i travyanistykh rasteniy s ispolzovaniem metodov kletochnoy i gennoy inzheneriy [Production of planting-stock of arboreal, floral and grassy plants with the use of methods of the cellular and gene engineering]. M.: Textbook, 2001, 122 p.

14. Cavusoglu A., Ipekci-Altas Z., Bajrovic K., Gozukirmizi N. and Zehir A. Direct and indirect plant regeneration from various explants of eastern cottonwood clones (*Populus deltoides* Bartram ex Marsh.) with tissue culture. *African Journal of Biotechnology*, 2011, vol. 10(16), pp. 3216-3221. [http://doi: 10.5897/AJB10.2400](http://doi:10.5897/AJB10.2400).

15. Kaňuchová A., Ďurkovič J. Wood ontogeny during *ex vitro* acclimatization in micropropagated hybrid poplar clones. *Biologia plantarum*, 2013, vol. 57(1), pp. 144-148. [http://doi: 10.1007/s10535-012-0122-2](http://doi:10.1007/s10535-012-0122-2).

16. Kalcsits L., Silim Ж., Tanino Ж. Warm temperature accelerates short photoperiod-induced growth cessation and dormancy induction in hybrid poplar (*Populus x spp.*). *Trees*, 2009, vol. 23, pp. 971–979. [http://doi: 10.1007/s00468-009-0339-7](http://doi:10.1007/s00468-009-0339-7).

КҮМІС (*POPULUS ALBA L.*) ЖӘНЕ БОЛЛЕ (*POPULUS BOLLEANA L.*) ТЕРЕКТЕРІН *IN VITRO* ЕНГІЗУ ҮШІН ӨСІРУ ЖАҒДАЙЛАРЫН ТАҢДАУ

Ұлттық биотехнология орталығы
Ш. Уәлиханов к-сі, 13/1, Астана, 010000, Қазақстан
kakimzhanova@biocenter.kz

ТҮЙІН

Жүргізілген зерттеу нәтижесінде күміс түстес терек (*Populus alba L.*) және Болле (*Populus bolleana L.*) терегін *in vitro* жағдайына енгізілді. Ол үшін тіршілікке қабілетті экспланттарды залалсыздандыру және өркен бүршігін культивирлеу үшін Мурасиге және Скуга қоректік ортасы мен теректің микроөркенінің өсуіне температуралық жағдай таңдалды.

Күміс түстес және Болле теректерінің еркек түрлерінің қолтық бүршіктерін *in vitro* жағдайына енгізуге, тіршілікке қабілетті зақымдалмаған экспланттардың шығуы үшін 1-ші нұсқалы залалсыздандыру сатысы (Твин-20 және 90% «Белизна», экспозиция уақыты 20 минут) таңдалды. Күміс түстес және Болле теректерінің 679 өркен бүршігін культивирлеу барысында Мурасиге және Скуга қоректік ортада өсуге қабілетті экспланттар мөлшері 488 (71,9%) құрады.

Populus alba L. және *Populus bolleana L.* теректерінің қолтық бүршіктерін культивирлеу үшін кинетин – 0,25 мг/л, индолил сірке қышқылы – 0,25 мг/л фитогормандар қосылған Мурасиге және Скуга (1 нұсқа) қоректік ортасы таңдалды.

In vitro жағдайында микроөркендерді алу үшін қолайлы температурасы таңдалды. Үш температуралық (8°C, 22°C, 28°C) жағдайды салыстырғанда: екі терек түрінің қолтық бүршіктерінің белсенді өсуі 22°C температурада байқалды.

Кілтті сөздер: күміс түстес терек, Болле терегі, қолтық бүршік, қоректік орта, *in vitro*.