

NEWS**OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN****SERIES OF AGRICULTURAL SCIENCES**

ISSN 2224-526X

Volume 1, Number 31 (2016), 107 – 110

**REPRODUCTION OF YARMOLENKO BIRCH
IN IN VITRO CULTURE****E. A. Shadenova, M. T. Sembekov, N. Aliev**

Institute of General genetics and cytology, Almaty, Kazakhstan

Keywords: Yarmolenko Birch, Micropagation.**Abstract.** This article discusses the key issues of reproduction and preservation with the method of biotechnology of Yarmolenko birch, relict recorded in the Red Book of Kazakhstan, characterized by high forest, as well as practical value.

УДК 575.17

**РАЗМОЖЕНИЕ БЕРЕЗЫ ЯРМОЛЕНКО
В КУЛЬТУРЕ IN VITRO****Е. А. Шаденова, М. Т. Сембеков, Н. Алиев**

РГП "Институт общей генетики и цитологии" КН МОН РК, Алматы, Казахстан

Ключевые слова: береза Ярмоленко, микроклональное размножение.**Аннотация.** В статье рассматриваются основные вопросы воспроизведения и сохранения методом биотехнологии березы Ярмоленко, реликтового вида, занесенного в Красную книгу Казахстана, характеризующуюся высокой лесохозяйственной, а также практической ценностью.**Введение.** Объекты для исследования выбирали в соответствии со следующими критериями: принадлежность вида к одной из наиболее уязвимых категорий редкости, принятых в Красной книге Казахстана; практическая ценность вида или их слабая изученность.

Береза Ярмоленко или красная береза представляет лесохозяйственную, декоративную, а также практическую ценность в качестве сырья для производства тепловой энергии, является эндемиком и занесена в Красную Книгу Казахстана, находящаяся в недалеком будущем под угрозой исчезновения. Именно в Казахстане ареал ее произрастания незначительный, растет недалеко от села Нарынкол Алматинской области - в поймах рек Текес и Байынколь.

Население этих мест, не подозревая о ценности этого вида, используют его в качестве топлива, в связи с этим красная береза идет на вырубку. С другой стороны после выпаса скота идет ежедневная потрава молодой поросли, при этом естественного возобновления не происходит. Сотрудники Нарынкольского лесхоза стараются сохранить красную березу от варварского уничтожения.

Совместно с сотрудниками Нарынкольского ГУ охраны лесов и животного мира обследован район произрастания краснокнижного вида - березы Ярмоленко (красная береза) в поймах рек Текес и Байынколь, собран материал для дальнейшего введения в культуру *in vitro*.

Одним из перспективных в мировой практике является метод асептических культур на искусственных питательных средах, получивший название клонального микроразмножения, успешно используемый в селекционной практике древесных и плодово-ягодных растений [1-8].

Размножение с помощью данного метода позволяет реализовать максимум генетического эффекта, получаемого в селекционных программах, и сократить время получения улучшенного посадочного материала в 2-3 раза.

Материалы и методы исследования. Для отбора, сохранения и размножения ценных генотипов древесных пород представляет важное значение изучение особенностей морфогенеза различных видов древесных в условиях *in vitro* [6-8].

Применение способа микроклонального размножения древесных идентично вегетативному типу размножения с той лишь разницей, что на начальном этапе размножение проводят в условиях *in vitro*, где на основе клеток изолированных тканей, почек или пазушных микропобегов можно регенерировать необходимое количество клонового материала.

В наших исследованиях в качестве эксплантов использованы почки и части асептических побегов. Процесс микроклонального размножения включал подготовку растительного материала к введению в культуру *in vitro* и получение стерильной культуры. Для этого экспериментально подбирались приемлемые для каждого из объектов исследования дезинфицирующие средства, которые, стерилизуя растительную ткань объектов исследования, никак не повреждали бы ее.

Апикальные и латеральные почки отделяли от покровных чешуй и высаживали на питательной средой МС. Экспланты культивировали при 16-часовом фотопериоде, с люминесцентным освещением и температуре 22-24°С.

Исследования, проведенные с изолированными почками, показали, что существенное влияние на проявление способности изолированных почек к морфогенезу в условиях *in vitro* оказывают физиологический возраст родительского дерева, сезонность, а также гормональный состав питательной среды.

Результаты исследования. Результаты исследований по регенерации растений из листьев, листовых дисков, черешков и отрезков междуузлий показывают различную их способность к формированию побегов, обусловленную, по-видимому, различной активностью меристематических тканей и, в частности, камбимальных. Возможно, это объясняется и физиологическими причинами. Известно, что меристематическим тканям свойственна аттрагирующая способность, обусловливающая направленность транспорта ассимилятов в растении [7-11].

Способность к регенерации определяется также поступлением питательных веществ и гормонов в тот или иной орган. Так, при расположении листа нижней стороной к среде, происходит преимущественное образование почек, а при расположении верхней стороной к среде, как правило, формируются корни. Это свидетельствует о поступлении различных веществ при разном расположении листьев, хотя, возможно, не последнюю роль здесь играет и полярность органогенеза [12].

В результате исследования наиболее подходящим стерилизующим агентом является раствор перекиси водорода - 10 мин. Такая стерилизация обеспечивает получение достаточно высокого количества асептических жизнеспособных культур (60-100%).

Установлено, что для микроклонального размножения берез в качестве базовой можно использовать питательную среду WPM б/г, и $\frac{1}{4}$ WPM ИМК 0,01 мг/л – у эксплантов березы Ярмоленко отмечен активный морфогенез, идет рост в высоту, объем листьев визуально увеличен. Культивируются в течение 3-4 месяцев при обычных условиях (24-26°С, освещенности 1-2 клк, фотопериоде 16 часов).

По истечении этого времени проводится субкультивирование хранящихся культур на свежие питательные среды того же состава, которые вновь хранятся в течение 8-9 месяцев при пониженной температуре. Цикл сохранения повторяют. Это позволяет удлинить период между пересадками до 1 года при сохранении высокой жизнеспособности и регенерационной способности культуры клонов.

Видовая принадлежность исходного растения, сезон, возраст и орган, из которого изолирован тканевой эксплант, гетерогенность или единообразие клеточного состава экспланта – все это оказывает влияние на способность культивируемых тканей и клеток к морфогенезу [9-12].

Обсуждение результатов. Полученные насаждения природных генотипов красной березы (живые коллекции) были созданы для длительного сохранения. Кроме того, они могут служить основной базой для размножения сохраняемых генотипов и восстановления утерянных лесов (в

дополнение к сохранению *in situ*). Живые коллекции могут также представлять собой ценнейший материал для целей селекции, так как выращивание большого числа генотипов в выровненных условиях позволяет им ярче проявиться и вести селекцию на генном уровне. Полученные клоны и их коллекция будут использованы в создании плантации лесохозяйственного и декоративного плана.

Выводы. Результаты, полученные в ходе исследования, могут иметь социальный спрос и экономическую заинтересованность в лесных питомниках в качестве посадочного материала с закрытой корневой с высокими показателями роста, со 100% приживаемостью, что позволит повысить уровень продаж сеянцев и саженцев берез, обладающих декоративными, лесохозяйственными характеристиками для компаний, занимающихся озеленением.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Баранов О.Ю. Изучение уровня генетической изменчивости и дифференциации среди форм берез //Проблемы лесоведения и лесоводства: сб.науч.тр. Института леса НАН Беларуси. – Беларусь: Гомель, 2002.- Вып.55. С.143-147.
- [2] А.С. 1597386 СССР. Способ микроклонального размножения карельской березы. /Бутова Г.П., Табацкая Т.М., Скробова Л.Л.; опубл 7.10.90, Бюл. № 37, -2с.
- [3] Машкина О.С. Табацкая Т.М., Стародубцева Л.М. Длительное микрочеренкование для массового клонального размножения карельской березы и тополя //Физиология растений. - 1999. - Т. 46. - С. 950-953.
- [4] Байбурина Р.К., Н.В.Катаева, Р.Г. Бутенко, Н.В. Старова. Клональное микроразмножение гетерозисных гибридов осины и тополя //Бюл.Гл. ботан. сада. - 1992. - №163. - С. 83 - 86.
- [5] Исаков Ю.Н., Машкина О.С. Лесная генетика и селекция: некоторые проблемы и перспективы использования //Интеграция фундаментальной науки и высшего лесотехнического образования по проблемам ускоренного воспроизведения, использования и модификации древесины //Материалы Межд. Науч.- практ. конф. - Воронеж, 13-16 июля 2000. – Т. 1. – С. 207-214.
- [6] Геринг Х.К., Цоглауэр Б. Гоффманн, Пинкер И. Влияние ауксина и красного света на корнеобразование у побегов березы invitro //Культура клеток растений и биотехнология. – М., 1986. - С. 106 - 110.
- [7] Ветчинникова Л.В. Карельская береза и другие редкие представители рода *Betula* L. – М: Наука, 2005. – 269с.
- [8] Dubova I. Berza. *Betula pendula* atsevisku klonu pecnacezu pavairosana in vitro //Mezzinatue. - 1994. - Vol. 37, N 4. - P. 28-34.
- [9] Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and biassay with tobacco tissue cultures //Physiol. plant. - 1962. -Vol. 15, N 13. - P. 473 - 497.
- [10] Cheema G. S. Somatic embryogenesis and plant regeneration from cell suspension and tissue cultures of mature Himalayan poplar (*Populus ciliata*) //Plant Cell Rep. – 1989. - Vol.8. – P. 124 - 127.
- [11] Schulzke R. Die Anwendung on vitro kultutehniken bei Waldbanmen //Osterr Fortzfg.- 1988. - Vol. 99, N 3. - P. 66 - 67.
- [12] Simola L.K. Propagation of plantlets from leaf callus of *Betula pendula* f. *purpurea* //Sci. Horticult. - 1985b. - Vol.26, N1. - P. 77 - 85.

REFERENCES

- [1] Baranov O.Yu. Study of the level of genetic variability and differentiation among the forms of birch // Problems of Forestry and Forestry: coll.sc.w. Forest Research Institute National Academy of Sciences. - Belarus: Gomel, 2002.- Iss.55. p.143-147. (in Russ.).
- [2] AS 1597386 USSR. A method of micropagation of Karelian birch. / Butova G.P., Tabatskaya T.M., Skrobova L.L.; published 07/10/90, Bul. Number 37, 2p. (in Russ.).
- [3] Mashkina O.S., Tabatskaya T.M., Starodubtseva L.M. Long microcutting for mass clonal propagation of Karelian birch and poplar // Plant Physiology. - 1999. - V. 46. - P. 950-953. (in Russ.).
- [4] Bayburina R.K., Kataeva N.V., Butenko R.G., Starova N.V. Micropagation heterosis hybrid aspen and poplar //Byul.Gl. nerd. garden. - 1992. - №163. - p. 83 - 86. (in Russ.).
- [5] Isakov Yu.N., Mashkina O.S. Forest Genetics and Breeding: some problems and prospects // The integration of fundamental science and higher education Forestry on the accelerated reproduction, use and modification of wood // Materials of Int. Nauch.- Pract. Conf. - Voronezh, July 13-16, 2000. - V. 1. - P. 207-214. (in Russ.).
- [6] Goering Kh.K., Tsoglauer B. Hoffmann, Pinker I. Effect of auxin and the red light on the root formation in shoots of birch invitro // plant cell culture and biotechnology. - M., 1986. - p. 106 - 110. (in Russ.).
- [7] Vetchinnikova L.V. Karelian birch and other rare representatives of *Betula* L. - M: Nauka, 2005. - 269p. (in Russ.).
- [8] Dubova I. Berza. *Betula pendula* atsevisku klonu pecnacezu pavairosana in vitro //Mezzinatue. - 1994. - Vol. 37, N 4. - P. 28-34.
- [9] Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and biassay with tobacco tissue cultures //Physiol. plant. - 1962. -Vol. 15, N 13. - P. 473 - 497.
- [10] Cheema G. S. Somatic embryogenesis and plant regeneration from cell suspension and tissue cultures of mature Himalayan poplar (*Populus ciliata*) //Plant Cell Rep. – 1989. - Vol.8. – P. 124 - 127.
- [11] Schulzke R. Die Anwendung on vitro kultutehniken bei Waldbanmen //Osterr Fortzfg.- 1988. - Vol. 99, N 3. - P. 66 - 67.
- [12] Simola L.K. Propagation of plantlets from leaf callus of *Betula pendula* f. *purpurea* //Sci. Horticult. - 1985b. - Vol.26, N1. - P. 77 - 85.

Известия Национальной Академии наук Республики Казахстан

IN VITRO КУЛЬТУРАСЫНДА ЯРМОЛЕНКО ҚАЙЫНЫҢ КӨБЕЮ ЕРЕКШЕЛПТЕРИ

Е. А. Шаденова, М. Т. Сембеков, Н. Алиев

РГП "Институт общей генетики и цитологии" КН МОН РК, Алматы, Казахстан

Тірек сөздер: Ярмоленко қайыны, микроклональдік көбейту.

Аннотация. Мақалада Қазақстанның Қызыл Қітабына енгізілген жоғары орман шаруашылық және тәжірибелік құнды, реликтівті Ярмоленко қайынының биотехнология әдісімен сақтау және көбейтудің негізгі мәселері қарастырылған.

Поступила 19.01.2016г.