ИЗУЧЕНИЕ ТОЛЕРАНТНОСТИ ДЕРЕВЬЕВ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ (*PINUS SYLVESTRIS* L.) С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУР *IN VITRO*

В МОДЕЛИРУЕМЫХ СТРЕССОВЫХ УСЛОВИЯХ

Пардаева Е.Ю.1,2, Табацкая Т.М.1, Машкина О.С.1,2

1 Всероссийский НИИ лесной генетики, селекции и биотехнологии, Воронеж

2 Воронежский государственный университет, Россия elena.pardaeva@mail.ru

Одна из актуальных проблем современности – выявление устойчивости растений к неблагоприятным факторам среды. Для её решения используются различные методы и подходы, в том числе биотехнологический. К настоящему времени положительные результаты по изучению реакции клеточных и тканевых культур на различные условия культивирования получены в основном на сельскохозяйственных растениях, и в значительно меньшей степени - на древесных. С помощью использования питательных сред с заданными агентами (например, солями (NaCl, MgSO4, KCl), тяжелыми металлами и др.) создаются биотехнологические модели в культуре *in vitro* с различной стрессорной нагрузкой, что дает возможность изучения стрессоустойчивости различных генотипов.

 Нами изучено влияние засоления питательных сред (½ MS+ α-НУК (2мг/л)+6-БаП (0,5мг/л)) хлоридом натрия (NaCl) на каллусогенные реакции различных генотипов сосны обыкновенной. Объекты исследования – контрастные по степени устойчивости к засухе деревья сосны обыкновенной («устойчивые» и «чувствительные»), отобранные Н.Ф. Кузнецовой по признакам семенной продуктивности. Всего 5 деревьев, произрастающих в экологически благоприятном районе Воронежской области. Экспланты - стеблевые сегменты зеленых побегов сосны длиной 1-1.5 см, изолированные в мае месяце. Критерии оценки каллусогенеза: скорость инициации первичных каллусных культур (СК), интенсивность (ИК) и частота (ЧК) каллусогенеза, жизнеспособность каллусных культур (ЖК). Испытано несколько условий засоления NaCl: 1) 0.2-0.5%; 2) 1-1.5%; 3) 2%. Контролем служили культуры, растущие на средах без NaCl.

В целом наблюдалось угнетение ростовых процессов каллусных культур, которое усиливалось пропорционально увеличению содержания NaCl в питательной среде. Тем не менее, каллусогенные реакции в условиях солевого стресса были различны у разных генотипов и не всегда коррелировали с их групповой принадлежностью («устойчивые» или «чувствительные») и изученными показателями каллусогенеза в контроле. Так, например, каллусные культуры деревьев №23 («устойчивое») и №24 («чувствительное»), имеющие достаточно высокие значения ИК в контроле (3.7 и 3.6 балла), не выдерживали «засоление» среды даже при малых дозах NaCl (0.2-0.5%). Каллусные культуры дерева №12 («чувствительное») с низкой ИК (2.0-2.2 балла) как в контроле, так и в опытном варианте (0.2-0.5% NaCl) сохраняли достаточно высокую жизнеспособность (60%) в течение 20 дней. Культуры остальных деревьев, независимо от их групповой принадлежности («устойчивые» или «чувствительные») при тех же условиях культивирования сохранили жизнеспособность в диапазоне 0,2-0,5%. При увеличении содержания NaCl в питательной среде до 1.5% отмечено резкое снижение сохранности культур. Как и предполагалось, 2% концентрация NaCl была летальной для всех культур.

Таким образом, все каллусные культуры проявляли чувствительность к «засолению». Однако, каллусогенная реакция в условиях солевого стресса была неоднозначна и варьировала в зависимости от генотипа исходного дерева. Выявлены как толерантные генотипы к данному стресс-фактору, так и погибающие в течение первых дней его воздействия. Полученные данные о чувствительности каллусогенезов, дифференциации в ответах показали возможность использования их особенностей в комплексной оценке устойчивости деревьев к стрессовым факторам.

STUDY OF TOLERANCE OF SCOTS PINE TREES (*PINUS SYLVESTRIS* L.) USING CALLUS CULTURES *IN VITRO* IN MODELED STRESS CONDITIONS

Pardayeva E.Yu.1,2, Tabatskaya T.M.1, Mashkina O.S.1,2

1 All-Russian Research institute of Forest Genetics, Breeding and Biotechnology, Voronezh
2 Voronezh State University, Russia elena.pardaeva@mail.ru

One of the actual problems of our time is the identification of plant resistance to adverse environmental factors. For its decision used different methods and approaches, including biotechnology. To date, the positive results of a study of the cultures cell and tissue reaction to various culture conditions were obtained mainly on agricultural plants, and a significantly lesser extent - on woody. By using the nutrient media with desired agents (for example, salts (NaCl, MgSO4, KCl), heavy metals and others) are created biotechnological models *in vitro* culture with varying stress load, which gives the opportunity to study stress resistance of different genotypes.

 We have studied the influence of salinization culture media (½ MS + α-NAA (2mg/l) + 6-BAP (0.5 mg/l)), sodium chloride (NaCl) on reactions of callusogenesis of different genotypes of Scots pine. Objects of research - Scots pine trees contrasting in degrees of drought resistance («resistant» and «sensitive») selected by the N.F. Kuznetsova on the basis of seed production. Total 5 trees that grow in ecologically auspicious district of Voronezh region. Explants - stem segments of green pine shoots 1-1.5 cm long, isolated in the month of May. Criteria for assessing of callusogenesis: the speed of initiation of primary callus cultures (SC), intensity (IC) and frequency (FC) of callusogenesis, callus cultures vitality (VC). Tested several conditions of NaCl salinization: 1) 0.2-0.5%; 2) 1-1.5%; 3) 2%. Culture grown on media without NaCl served as a control.

Generally, there was inhibition of growth processes of callus cultures which amplified proportionally to the increase of content NaCl in the nutrient medium. Nonetheless, reaction of callusogenesis under salt stress were different in various genotypes and do not always correlated with their group affiliation («resistant» or «sensitive») and the studied parameters of callus formation in control. For example, callus cultures of trees №23 («resistant») and №24 («sensitive») having sufficiently high values ​​of IC in the control (3.7 and 3.6 points), could not withstand the «salinization» of environment, even at low doses of NaCl (0.2-0.5%). Callus culture of wood №12 («sensitive») with low IC (2.0-2.2 points) as in the control and as in the experimental variant (0.2-0.5% NaCl) saved sufficiently high vitality (60%) for 20 days. Culture of other trees irrespective of their group belonging («resistant» or «sensitive») under the same culture conditions preserved the vitality in the range of 0.2-0.5%. With increasing content of NaCl in the medium up to 1.5% showed a severe decrease in preservation of cultures. As expected, the NaCl concentration of 2% was lethal to all plants.

Thus, all the callus cultures showed sensitivity to «salinization». However, reaction of callusogenesis under salt stress was ambiguous and varied depending on the genotype of the original tree. Identified as tolerant genotypes to this stress factor, and die within the first days of its impact. Data obtained on the sensitivity of callusogenesis, differentiation in the responses showed the possibility of using their features in a comprehensive assessment of the stability of trees to stress factors.