

ОСОБЕННОСТИ РЕГЕНЕРАЦИИ *IN VITRO* ЛИПЫ МЕЛКОЛИСТНОЙ

Шабанова Екатерина Александровна, Внукова Наталья Ивановна
ФГБУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лесной генетики,
селекции и биотехнологии», Россия, г. Воронеж
katy-green2009@yandex.ru

Липа мелколистная (*Tilia cordata* Mill.) – ценная древесная порода, отличается экологической пластичностью и устойчивостью при создании лесных культур и защитных полос, широко применяется в озеленении. Массовое внедрение продуктивных и устойчивых экземпляров липы отечественной селекции в практику лесного хозяйства затруднено в связи с отсутствием эффективных технологий вегетативного размножения. Семенное размножение липы трудоемко, требует длительной стратификации и не гарантирует наследования хозяйственно ценных признаков родительских деревьев.

С целью разработки технологии клонального микроразмножения липы мелколистной апробированы различные протоколы стерилизации растительного материала и подобраны питательные среды для инициации побегообразования.

Объектами исследования являлись семь деревьев в возрасте 60–70 лет, отличающихся хорошим ростом, качеством ствола и плодоношением. Первичными эксплантами служили изолированные в мае-июне стеблевые сегменты однолетних побегов с пазушной почкой.

Для стерилизации эксплантов использовались коммерческие средства на основе гипохлорита натрия, алкилбензиламмония хлорида, дидецилметиламмония хлорида, а также мертиолят. Наиболее эффективной для летних побегов липы была поэтапная стерилизация с предварительной обработкой мыльным раствором и 4 % раствором «Domestos» в нестерильных условиях в течение 10 мин, затем в ламинар-боксе 0,025 % раствором мертиолята в сочетании с растворами «Белизна» 7 % и «Твин-20» 0,02 % в течение 10 мин. Получено 75–90 % асептических жизнеспособных культур.

В качестве питательной среды использованы модифицированные среды на основе MS (Мурасиге и Скуга) с добавлением регуляторов роста: 6-бензиламинопурина (БАП 0,2–2 мг/л), тидиазурона (ТДЗ 0,1 мг/л), гибберелловой кислоты (ГК₃ 0,2–0,5 мг/л).

Показано существенное влияние состава и концентрации регуляторов роста на формирование основного пазушного побега. На средах с БАП в концентрации 0,2–0,5 мг/л побеги сформировались у 20–30 % эксплантов, длина побега достигала не более 0,5 см за месяц культивирования. На средах с добавлением ТДЗ в сочетании с БАП в основании побега образовывался рыхлый обводненный каллус, теряющий жизнеспособность в течение двух недель после формирования.

Лучшие результаты получены на средах MS с добавлением 1 мг/л БАП в сочетании с 0,2–0,5 мг/л ГК. Доля эксплантов, сформировавших основной побег в течение месяца культивирования варьировала от 25 до 90 % в зависимости от генотипа. Длина побега достигала 1,5–3 см. Всего получено 200 микропобегов семи генотипов липы, ведется работа по подбору оптимальных условий укоренения.

Ключевые слова: липа мелколистная, *in vitro*, клональное микроразмножение

FEATURES OF *IN VITRO* REGENERATION OF SMALL-LEAVED LINDEN

Shabanova Ekaterina Aleksandrovna, Vnukhova Natalia Ivanovna
All-Russian Research Institute of Forest Genetics, Breeding and Biotechnology,
Russia, Voronezh
katy-green2009@yandex.ru

Small-leaved linden (*Tilia cordata* Mill.) is a valuable tree species, characterized by ecological plasticity and stability when creating forest planting and shelter belts, widely used in landscaping. The mass introduction of productive and stable linden specimens of domestic breeding into the practice of forestry is difficult due to the lack of effective technologies of vegetative reproduction. Seed propagation of linden is laborious, requires long-term stratification and does not guarantee inheritance of economically valuable traits of parent trees.

In order to develop the technology of clonal micropropagation of small-leaved linden, various protocols for the sterilization of plant material were tested and nutrient media for the initiation of shoot formation were selected.

The objects of the study were seven trees aged 60–70 years, characterized by good growth, trunk quality and fruiting. The primary explants were isolated in May-June stem segments of annual shoots with an axillary bud.

Commercial agents based on sodium hypochlorite, alkylbenzylammonium chloride, didecylmethylammonium chloride, and merthiolate were used to sterilize explants. The most effective for summer linden shoots was step-by-step sterilization with pretreatment with soap solution and 4 % "Domestos" solution in non-sterile conditions for 10 minutes, then in a laminar box with 0.025 % merthiolate solution in combination with solutions "Belizna" 7 % and "Tween-20" 0.02 % for 10 minutes. 75–90% of aseptic viable cultures were obtained.

Modified MS-based media (Murashige and Skoog) with the addition of growth regulators were used as a nutrient medium: benzyladenine (BA 0.2–2 mg/l), thidiazuron (TDZ 0.1 mg/l), gibberellic acid (GA₃ 0.2–0.5 mg/l).

A significant influence of the composition and concentration of growth regulators on the formation of the main axillary shoot is shown. On media with BA at a concentration of 0.2–0.5 mg/l, shoots formed in 20–30 % of explants, the length of the shoot reached no more than 0.5 cm per month of cultivation. On media with the addition of TDZ in combination with BA, a loose watered callus was formed at the base of the shoot, losing viability within two weeks after formation.

The best results were obtained on MS media with the addition of 1 mg/l of BA in combination with 0.2–0.5 mg/l of GA₃. The proportion of explants that formed the main shoot during the month of cultivation varied from 25 to 90 %, depending on the genotype. The length of the shoot reached 1.5–3 cm. In total, 200 microshoots of seven linden genotypes were obtained, work is underway to select optimal rooting conditions.

Keywords: small-leaved linden, *in vitro*, clonal micropropagation.