

УДК 58.085+58.006:502.75

ПОЛУЧЕНИЕ МЕЖВИДОВЫХ ГИБРИДОВ (*Populus alba* × *P. bolleana*) × *P. × canescens* С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КУЛЬТУРЫ *in vitro*

А. А. Эрст, С. В. Шишкин, М. С. Воронкова

Центральный сибирский ботанический сад СО РАН
630090, Новосибирск, ул. Золотодолинская, 101

E-mail: annaerst@yandex.ru, semen751975@mail.ru, bmc_87@mail.ru

Поступила в редакцию 21.01.2019 г.

Исследовано 8 вариантов гибрида тополя сибирского серебристого № 12 (*Populus alba* × *P. bolleana*) × *P. × canescens*, полученных методом гибридизации на срезанных ветвях. Отмечена 100%-я всхожесть гибридных семян в условиях *in vitro* на второй день культивирования. По типу морфогенного ответа, коэффициенту размножения, параметрам роста и развития в условиях *in vitro* и *ex vitro* отмечена высокая вариабельность признаков полученных вариантов. Для вариантов № 1, 6 и 8 характерно развитие конгломерата адвентивных почек в основании побегов в ответ на присутствие 0.5–2.5 мкМ 6-бензиламинопурина (БАП) в питательной среде, для остальных вариантов – разрастание основания побега и нижних листьев с последующим образованием на них адвентивных почек. Максимальный коэффициент размножения (20.1 шт./экспл.) получен для варианта № 8 на питательной среде, дополненной 2.5 мкМ БАП. Использование концентрации БАП более 2.5 мкМ оказывало негативный эффект, так как приводило только к значительному разрастанию основания побегов, нижних листьев и к снижению коэффициента размножения. 100%-й ризогенез изучаемых вариантов генотипа отмечен на безгормональной среде 1/2 МС. При этом только для варианта № 8 показано накопление антоцианов корневой системой. При выращивании в условиях *ex vitro* наблюдали различия формы листовой пластинки гибридов, например, вариант № 7 характеризовался наличием листьев без лопастей. Показано, что сочетание методов классической гибридизации и методов *in vitro* позволяет максимально использовать генетический потенциал новых гибридов тополя в селекционной работе.

Ключевые слова: тополя белый, Болле, сереющий, сибирский серебристый, гибридное потомство, морфогенез *in vitro*, БАП.

DOI: 10.15372/SJFS20190204

ВВЕДЕНИЕ

Межвидовая гибридизация тополя белого *P. alba* L. с привлечением представителей секции *Populus* (осины и белые тополя) начата еще в 40-х гг. XX в. (Heimburger, 1940) и сегодня не теряет актуальности (Бакулин, 2005). Тополь белый и гибриды, полученные с участием тополя Болле *P. bolleana* Lauche, редко привлекаются для зеленого строительства в городах Сибири, хотя превосходят интродуценты по зимостойкости и не уступают им по интенсивности роста (Бакулин, 2012). Тополь сереющий *P. × canescens* (Ait.) Sm. – спонтанный гибрид между тополем белым и осинкой *P. tremula* L. Он

морозостоек, не требователен к почве, устойчив к колебаниям уровня подземных вод и способен к росту на кислых, тяжелых глинистых почвах и даже на болотах (Лавриненко и др., 1966; Коропачинский, Милютин, 2006; Сиволапов и др., 2014; Банаев и др., 2017), применяется для фиторемедиации почв (Schützendübel et al., 2002; Jian, Zhen-hua, 2006). Использование тополя сереющего в качестве одного из родительских форм для получения устойчивых к неблагоприятным условиям городской среды гибридов является перспективным направлением.

Известно, что представители секции *Populus* (*P. tremula*, *P. alba*, *P. × canescens*, *P. tremuloides*) являются трудноукореняемыми растениями при

использовании традиционных способов размножения. Использование альтернативных методов размножения растений, таких как клональное микроразмножение, весьма перспективно для тиражирования ценных форм сибирских видов и гибридов тополя и позволяет максимально использовать генетический потенциал новых гибридов в селекционной работе. Контролируемые условия *in vitro* являются удобной системой ранней оценки морфогенетического потенциала и перспективности использования вновь полученных гибридов тополей.

Цель данного исследования – выявить особенности размножения гибридного потомства тополя сибирского серебристого *Populus alba* × *P. bolleana* и тополя сереющего *P. × canescens* в культуре *in vitro*. Данные приводятся впервые.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для введения в культуру *in vitro* послужили семена гибрида, полученного от скрещивания тополя сибирского серебристого № 12 (*Populus alba* × *P. bolleana*) и *P. × canescens*. Исходный материал для гибридизации: 25-летнее дерево тополя сибирского серебристого № 12 (♀), произрастающее в дендрарии ЦСБС СО РАН (г. Новосибирск) и ≈ 40-летнее дерево *P. × canescens* (♂), произрастающее в Новосибирской области, пос. Каинская Заимка, лог рядом с р. Ельцовка (54°52'35.9" с. ш., 83°08'29.1" в. д.).

При проведении гибридизации за основу взяли методики, разработанные для получения гибридных семян осины (Иванников, 1958; Багаев,

1967; Смилга, 1986). Для этого срезали крупные ветви с полностью закрытыми женскими почками тополя № 12 длиной около 3 м и диаметром в основании 5–7 см. На ветвях оставляли только те побеги, которые имели генеративные почки. Ветвь помещали в проточную воду на 30–40 см (г. Новосибирск, р. Зырянка) и закрепляли под углом 40–45° (рис. 1).

Ветвь располагали таким образом, чтобы генеративные органы находились на 1.5–1.7 м от поверхности земли, а место было хорошо освещенным и проветриваемым. На нераспустившиеся генеративные почки надевали тряпичные мешочки-изоляторы. Наблюдали каждые 2–3 дня за началом распускания почек. Когда женские почки в изоляторах раскрывались наполовину, проводили первое опыление пылью тополя сереющего (3 мая 2017 г.) и через сутки – повторное. Всего было опылено 4 сережки.

В результате скрещивания через 20 дней после опыления получена одна сережка с 14 семенами, 3 сережки семян не завязали. Каждому гибриднему семени (варианту) присвоен порядковый номер (№ 1–14). Контролем в данной работе послужил тополь сибирский серебристый № 12 (тополь № 12). Для введения в культуру *in vitro* тополя № 12 использовали разработанную ранее методику (Эрст, Бакулин, 2012а, б).

Поверхностную стерилизацию семян проводили по следующей схеме: семена погружали в 70%-й этанол на 30 с, затем в 20%-й раствор «Domestos» (гипохлорит натрия) на 20 мин при постоянном встряхивании (шейкер орбитальный, 100 об./мин), далее их трехкратно промывали стерильной дистиллированной водой.



Рис. 1. Внешний вид ветки тополя № 12 с изоляторами.

Для проращивания семян *in vitro* использовали 0.6%-й водный раствор агара (Испания).

У проростков отделяли апикальную почку и пересаживали на среду Мурасиге и Скуга (МС) (Murashige, Skoog, 1962), дополненную 5 мкМ 6-бензиламинопурина (БАП). На стадии мультипликации побегов питательную среду дополняли БАП в концентрации 0.5, 1.0, 2.5 и 5.0 мкМ. Для укоренения использовали половинный состав среды МС (1/2МС). Источником углеводов была сахароза (30 г/л), рН среды до автоклавирования доводили до 5.8. Продолжительность пассажа 30–35 сут. Контрольная среда – безгормональная МС.

Экспланты культивировали в следующих условиях: фотопериод – 16/8 ч свет/темнота, освещенность – 2–3 клк, температура – (24 ± 1) °С. Семена проращивали на фотопериоде 16/8 ч свет/темнота.

В работе учитывали следующие показатели: коэффициент размножения (КР) – количество развившихся адвентивных побегов на экспланте (развившиеся пазушные почки не учитывали) (шт./экспл.); морфогенный ответ (МО): образование конгломерата адвентивных побегов в основании побега (кпоп), разрастание тканей основания побега (роп), адвентивное побегообразование на разросшихся тканях основания побега (проп), разрастание тканей нижних листьев (рнл), адвентивное побегообразование на разросшихся тканях нижних листьев (прнл), ризогенез (р).

Укорененные растения отмывали от агара в проточной воде и высаживали в субстрат, состоящий из торфа и песка в соотношении 3:1. Первые 5 сут растения накрывали прозрачной пленкой для создания повышенной влажности.

Статистическую обработку результатов и анализ полученных данных выполняли с использованием программ Microsoft Excel 7.0 и Statistica 6.0 (LSD-тест, ANOVA).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Всхожесть семян в культуре *in vitro* на 0.6%-м водном агаре составила 100 %, максимальная доля прорастания отмечена на 2-й день культивирования. При дальнейшем культивировании проростков на среде МС, дополненной 5 мкМ БАП, отмечены различия в морфогенном ответе: у восьми проростков наблюдали адвентивное побегообразование, пять проростков образовали каллус, один проросток остановился в развитии. В дальнейшей работе каллусы не использовали.

Высокая всхожесть семян гибридов тополей, в частности белого тополя, показана и другими исследователями в условиях *ex vitro*. Так, доля прорастания семян межвидового гибрида *P. alba* × *P. grandidentata* составила 81.8 % (Spies, 1978). В. Т. Бакулиным (2005, 2012) показана высокая лабораторная всхожесть семян, полученных при скрещивании тополя белого с другими видами секции *Populus*, %: *P. alba* × *P. × canescens* – 90, *P. alba* × *P. tremula* – 94, *P. tremula* × *P. alba* – 94, *P. alba* × *P. bolleana* – 58.

Морфогенные реакции в культуре *in vitro* тополей (активация развития существующих меристем, адвентивное побегообразование, эмбриогенез, ризогенез) в основном зависят от вида или генотипа растения и в значительной степени контролируются минеральным составом питательной среды и соотношением регуляторов роста (Confalonieri et al., 2003). Адвентивное побегообразование по прямому пути или через стадию каллусогенеза из различных типов эксплантов, таких как ткани камбия, сегменты листа и корня, изучено для различных видов и гибридов тополей (Ernst, 1993; Kang, Chun, 1997; Confalonieri et al., 2003). В данных работах показано, что оптимальными составами питательных сред для формирования побегов *de novo* тополей являются АСМ, MS, LSC, WPM. Для клонального микроразмножения тополей применяют широкий спектр цитокининов в различных концентрациях – БАП, зеатин, тидиазурон, кинетин, 2-изопентиладенин. По данным G. C. Douglas (1989), лучшие показатели органогенеза представителей р. *Populus* достигаются при применении БАП и зеатина в концентрации 1–4 и 1–5 мкМ соответственно. Эффективность применения цитокинина БАП показана для многих видов и гибридов тополей, в том числе белых (Ahuja, 1987; Son et al., 1991; Wang et al., 2011 и др.). На стадии микроразмножения нами исследовано влияние концентрации БАП на рост и развитие микропобегов изучаемого гибрида и выявлено, что варианты гибрида отличаются по типу морфогенного ответа и коэффициенту размножения (см. таблицу и рис. 2). Наибольший коэффициент размножения отмечен для варианта № 8 на средах с БАП 0.5, 1.0 и 2.5 мкМ. Для варианта № 7 показаны достоверные отличия от контроля (тополь № 12) на среде, дополненной 0.5 мкМ БАП. На контрольной среде МС побеги всех вариантов укоренялись. Использование концентрации БАП более 2.5 мкМ оказалось неэффективным для

Влияние концентрации БАП на коэффициент размножения (шт./экспл.) вариантов гибрида тополя сибирского серебристого № 12 × *P. × canescens* в культуре *in vitro*

№ варианта	Концентрация БАП, мкМ				
	Контроль	0.5	1.0	2.5	5.0
1	1a	6.8bc	6.5bc	6.0b	–
2	1a	3.5c	9.3b	7.3b	6.3a
3	1a	4.2c	8.5b	4.0b	4.3a
4	1a	4.7c	8.3b	5.7b	6.4a
5	1a	4.3c	7.3bc	3.2b	4.0a
6	1a	5.7bc	7.5bc	7.2b	4.5a
7	1a	8.3b	5.5c	6.0b	5.1a
8	1a	13.3a	15.2a	20.1a	7.8a
12 (контроль)	1a	4.3c	6.3bc	1.0b	6.0a

Примечание. Цифры в столбцах, обозначенные одинаковыми буквами, достоверно не различаются при $p \leq 0.05$ (LSD-test, ANOVA). Прочерк – разрастание тканей экспланта.

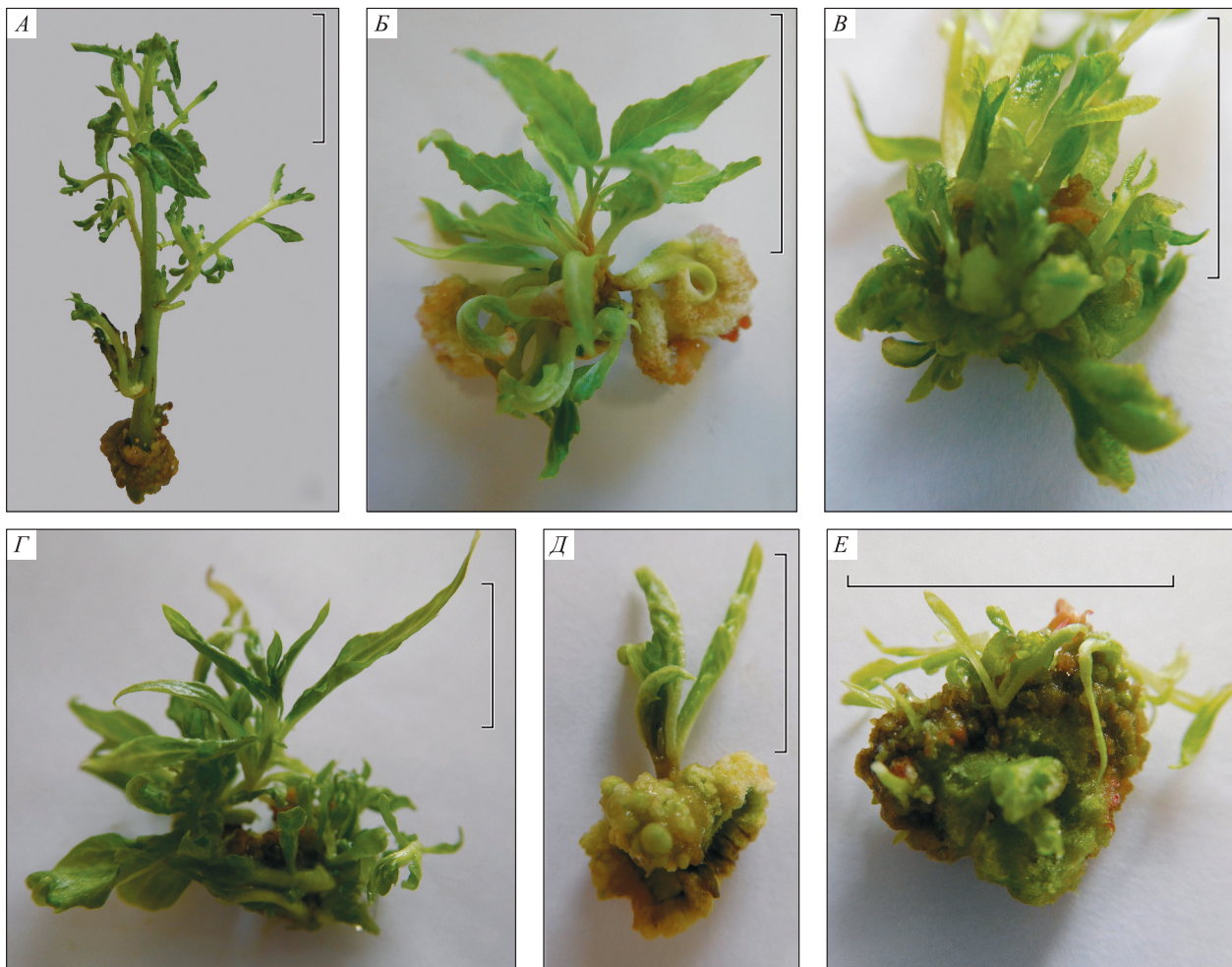


Рис. 2. Морфогенный ответ вариантов гибрида тополя сибирского серебристого № 12 × *P. × canescens* в культуре *in vitro* на среде МС, дополненной БАП в различной концентрации: А – развитие пазушных почек, вариант № 1, БАП 2.0 мкМ (часть побегов в основании экспланта удалена); Б – разрастание нижних листьев (рнл) на побеге, вариант № 5, БАП 1 мкМ; В – образование конгломерата адвентивных побегов в основании побега (кпоп), вариант № 9, БАП 0.5 мкМ; Г – адвентивное побегообразование на разросшихся нижних листьях побега (прнл), вариант № 7, БАП 1 мкМ; Д – разрастание основания побега (роп), тополь № 12, БАП 2.5 мкМ; Е – адвентивное побегообразование на отделившемся от побега нижнем листе (прнл), вариант № 9, БАП 1 мкМ. Линейка: 1 см.

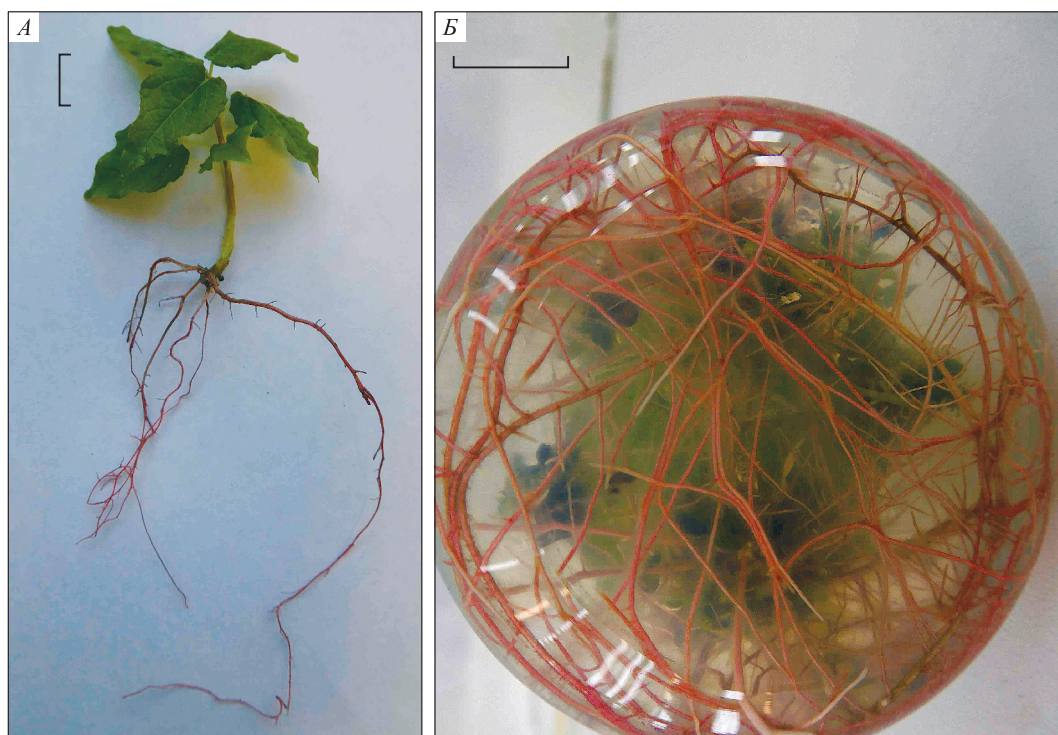


Рис. 3. Внешний вид варианта № 8 гибрида тополя сибирского серебристого № 12 × *P. × canescens* на этапе укоренения *in vitro* на среде 1/2 МС: *A* – растение-регенерант; *B* – корни в питательной среде. Линейка: 1 см.

большинства вариантов, так как приводило к значительному разрастанию основания побегов, нижних листьев и снижению коэффициента размножения.

Наши более ранние исследования подтверждают, что применение высоких концентраций БАП (более 5 мкМ) действует негативно на размножение *in vitro* сибирских видов и гибридов тополей, кроме тополя черного *P. nigra* (Эрст, Бакулин, 2012а, б; Erst et al., 2014).

Для всех эксплантов характерно развитие пазушных почек на побегах (см. рис. 2, *A*). У вариантов № 1, 6 и 8 отмечено развитие конгломерата побегов в основании экспланта (см. рис. 2, *B*). Для остальных вариантов более характерным ответом на присутствие цитокинина в питательной среде было разрастание основания побега и нижних листьев с последующим образованием на них адвентивных побегов (см. рис. 2, *B, Г, Д, E*).

Полученные варианты гибрида и тополь № 12 проявили 100%-ю укореняемость на безгормональной среде 1/2 МС. Для укоренения микропобегов *in vitro* обычно применяют различные ауксины. Однако исследователи отмечают, что при использовании ауксинов в культуре *in vitro* тополей наблюдается каллусообразование. Так, для гибрида *P. × euramericana* пока-

зано, что использование ауксинов, в том числе в низких концентрациях, вызывало активное каллусообразование (Agrawal, Gupta, 1991). Важным фактором успешного укоренения является и уменьшение содержания минеральных элементов питательной среды, что вызывает активацию развития корневой системы для обеспечения нормального питания растений. Кроме того, использование уменьшенной концентрации минеральных солей более целесообразно, так как на таких средах (при оптимально подобранной концентрации ауксина) не формируется каллус на базальной части микропобега (Вечернина, 2004). Наши исследования показали, что для эффективного укоренения полученных микропобегов достаточно использовать безгормональную среду МС с уменьшенным вдвое содержанием макроэлементов. Ризогенез наблюдали на 5-й день культивирования. Для варианта № 8 отмечено образование корней красного цвета и окрашивание культуральной среды в тот же цвет, что вызвано накоплением антоцианов в тканях растений (рис. 3).

Известно, что увеличение биосинтеза и накопления антоцианов в тканях связаны с состоянием стресса растений (Scott, 1999; Solfanelli et al., 2006; Макаренко, Левицкий, 2013). В культуре *in vitro* стресс может быть вызван высоким

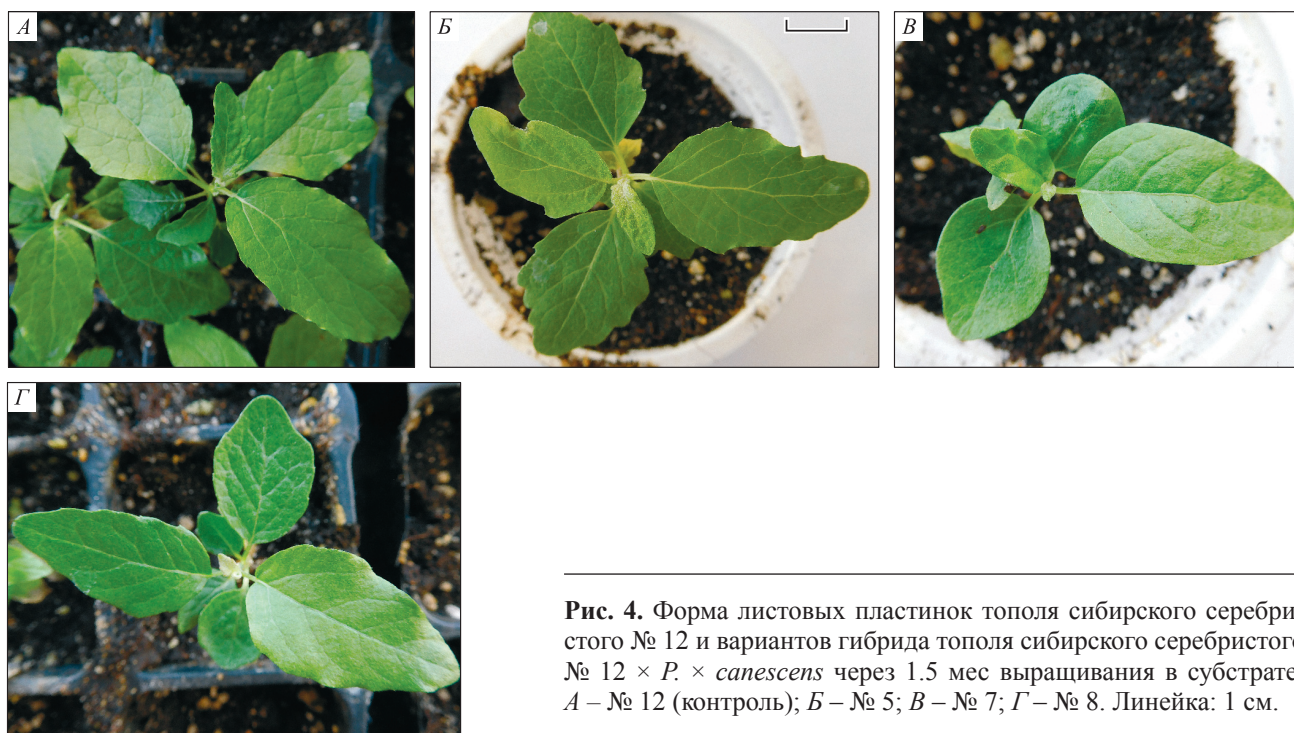


Рис. 4. Форма листовых пластинок тополя сибирского серебристого № 12 и вариантов гибрида тополя сибирского серебристого № 12 × *P. × canescens* через 1.5 мес выращивания в субстрате: А – № 12 (контроль); Б – № 5; В – № 7; Г – № 8. Линейка: 1 см.

уровнем экзогенных регуляторов роста, углеводов, а также спектральным составом света и его интенсивностью (Gaspar et al., 2002; Hazarika, 2006; Claeys et al., 2014). Повышенный синтез антоцианов является неспецифической реакцией растений в ответ на неблагоприятные условия среды, поэтому эндогенный уровень антоциановых пигментов можно использовать как тест, характеризующий степень воздействия экологических условий на растения (Масленников, 2003). В результате наших исследований показано, что накопление антоцианов у варианта № 8 связано и с высокой скоростью роста и развития эксплантов, а также, вероятно, с его устойчивостью к стрессовым условиям *in vitro*.

Через 1.5 мес выращивания растений в субстрате проводили первичную оценку полученных генотипов. П. П. Бессчетновым (1969) показано, что у гибридных семян тополей обнаружена разная степень варьирования признаков. Варьирующие признаки всходов в определенной степени коррелируют с отдельными показателями будущего взрослого растения и могут быть использованы для отбора перспективных гибридных семян на ранней стадии их роста. Результаты нашего исследования показали отличия по форме листовой пластинки варианта № 7 от остальных генотипов и контрольного образца. Лист данного варианта не имел лопастей и выемок (рис. 4).

В условиях теплицы вариант № 8 характеризовался наибольшими значениями высоты по-

бегов, данный параметр превышал показатели остальных вариантов в 1.4–1.8 раза (рис. 5).

В результате нашей работы показано, что потомство, полученное от межвидового скрещивания тополя сибирского серебристого № 12 × *P. × canescens*, проявляет высокую вариабельность признаков в культуре *in vitro* по параметрам роста и развития, а также по форме листовой пластинки в условиях *ex vitro*.

Максимальный коэффициент размножения в условиях *in vitro* отмечен для варианта № 8 (20.1 шт./экспл.), кроме того, для этого варианта отмечено повышенное накопление антоцианов корневой системой. У варианта № 7 формировались листья без лопастей.

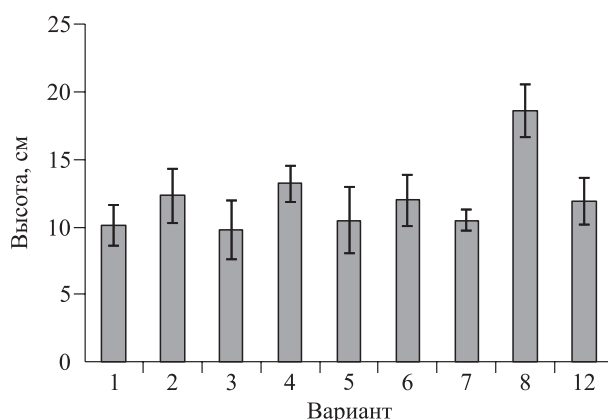


Рис. 5. Высота побегов тополя сибирского серебристого № 12 и вариантов гибрида тополя сибирского серебристого № 12 × *P. × canescens* через 3 мес выращивания в теплице.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, использование культуры *in vitro* для размножения и ранней оценки гибридов тополя является перспективным подходом, позволяющим максимально применять генетический потенциал полученных гибридов, отбирать и размножать наиболее перспективные генотипы в короткие сроки и в необходимом количестве. В дальнейшей работе будет проведена оценка вариантов гибрида тополя сибирского серебристого № 12 × *P. × canescens* в условиях *ex vitro* по параметрам роста и устойчивости к неблагоприятным факторам (засухо- и солеустойчивости).

Работа выполнена в рамках государственного задания Центрального сибирского ботанического сада СО РАН по проекту «Оценка морфогенетического потенциала популяций растений Северной Азии экспериментальными методами» № АААА-А17-117012610051-5 и гранта мэрии города Новосибирска в сфере научной и инновационной деятельности «Биотехнология размножения и отбора перспективных для озеленения г. Новосибирска форм и гибридов тополя». При подготовке публикации использовались материалы биоресурсной научной коллекции ЦСБС СО РАН «Коллекции живых растений в открытом и закрытом грунте», УНУ № USU 440534. Часть работ выполнена на оборудовании ЦКП «Микроскопического анализа биологических объектов» ЦСБС СО РАН.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Багаев С. Н. Способ получения гибридных семян древесных пород. Описание изобр. к авт. свид. № 192540 // Бюл. изобр. 1967. № 5. 15 с.

Бакулин В. Т. Использование тополя в озеленении промышленных городов Сибири: краткий анализ проблем // Сиб. экол. журн. 2005. Т. 12. № 4. С. 563–571.

Бакулин В. Т. Тополь белый в Западной Сибири. Новосибирск: Акад. изд-во «Гео», 2012. 117 с.

Бананов Е. В., Шишкин С. В., Воронкова М. С., Беланова А. П., Томошевич М. А. Морфологические и биохимические особенности *Populus × canescens* в природных популяциях Алтайского края // Вестн. Алтай. гос. агр. ун-та. 2017. № 8 (154). С. 90–97.

Бессчетнов П. П. Тополь (культура и селекция). Алма-Ата: Кайнар, 1969. 155 с.

Вечернина Н. А. Методы биотехнологии в селекции, размножении и сохранении генофонда растений. Барнаул: Алтай. гос. ун-т, 2004. 202 с.

Иванников С. П. Способы массового получения гибридных семян и выращивание гибридных растений обоянской исполинской осины. М.: ВНИИЛМ, 1958. 9 с.

Коропачинский И. Ю., Милютин Л. И. Естественная гибридизация древесных растений. Новосибирск: Акад. изд-во «Гео», 2006. 223 с.

Лавриненко Д. Д., Редько Г. И., Лищенко А. А., Ковалевский А. К., Прилуцкий А. В., Черемской С. Г., Лесовский А. В., Тимченко Г. А. Создание тополевых насаждений. М.: Лесн. пром-сть, 1966. 315 с.

Макаренко О. А., Левицкий А. П. Физиологические функции флавоноидов в растениях // Физиол. биохим. культ. раст. 2013. Т. 45. № 2. С. 100–112.

Масленников П. В. Экологические аспекты накопления антоциановых пигментов в растениях: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.16. Калининград: Калининград. гос. ун-т, 2003. 24 с.

Сиволапов А. И., Политов Д. В., Машкина О. С., Белоконов М. М., Сиволапов В. А., Белоконов Ю. С., Табацкая Т. М. Цитологические, молекулярно-генетические и лесоводственно-селекционные исследования полиплоидных тополей // Сиб. лесн. журн. 2014. № 4. С. 50–58.

Смилга Я. Я. Осина. Рига: Зинатне, 1986. 238 с.

Эрст А. А., Бакулин В. Т. Клональное микроразмножение тополя сибирского серебристого // Turczaninowia. 2012a. Т. 15. № 1. С. 58–62.

Эрст А. А., Бакулин В. Т. Эффективный способ регенерации побегов тополя из почек и листьев // Науч. вед. БелГУ. Сер. Ест. науки. 2012б. № 21 (140). Вып. 21. С. 53–58.

Agrawal V., Gupta S. C. *In vitro* plantlet development from explants of 25-year-old trees of *Populus × euramericana* – a hybrid poplar // Plant Sci. 1991. V. 78. Iss. 1. P. 99–105.

Ahuja M. R. *In vitro* propagation of poplar and aspen // Cell and Tissue Culture in Forestry. Case Histories: Gymnosperms, Angiosperms and Palms. For. Sci. V. 24–26 / J. M. Bonga, D. J. Durzan (Eds.). Dordrecht: Springer, 1987. P. 207–223.

Claeys H., Van Landeghem S., Dubois M., Maleux K., Inzé D. What is stress? Dose-response effects in commonly used *in vitro* stress assays // Plant Physiol. 2014. V. 165. Iss. 2. P. 519–527.

Confalonieri M., Balestrazzi A., Bisoffi S., Carbonera D. *In vitro* culture and genetic engineering of *Populus* spp.: synergy for forest tree improvement // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 2003. V. 72. Iss. 2. P. 109–138.

Douglas G. C. Poplar (*Populus* spp.) // Biotechnology in Agriculture and Forestry. V. 5. Trees II. Y. P. S. Bajaj (Ed.). Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 1989. P. 300–323.

Ernst S. G. *In vitro* culture of pure species non-aspen poplars // Micropropagation of Woody Plants. For. Sci. V. 41 / M. R. Ahuja (Ed.). Dordrecht: Springer, 1993. P. 195–207.

Erst A. A., Bakulin V. T., Erst A. S., Kuznetsov A. A., Bayahmetov E. Z. *In vitro* propagation of ornamental hybrids of *Populus* L. // Biosci. Biotech. Res. Asia. 2014. V. 11 (Nov. Spl. Ed. 2). P. 69–77.

Gaspar T., Franck T., Bisbis B., Kevers C., Jouve L., Hausman J. F., Dommes J. Concepts in plant stress physiology. Application to plant tissue cultures // Plant Growth Regulat. 2002. V. 37. Iss. 3. P. 263–285.

- Hazarika B. N. Morpho-physiological disorders in *in vitro* culture of plants // Sci. Horticult. 2006. V. 108. Iss. 2. P. 105–120.
- Heimburger C. Report on poplar hybridization II, 1937 and 1938 // For. Chron. 1940. V. XVI. N. 2. P. 149–160.
- Jian G., Zhen-hua P. Response of *Populus × canescens* (*Populus tremula × alba*) to high concentration of NaCl stress // J. For. Res. 2006. V. 17. Iss. 4. P. 269–272.
- Kang H., Chun Y. W. Plant regeneration through or ganogenesis in poplar // Micropropagation, Genetic Engineering, and Molecular Biology of *Populus* / N. B. Klopfenstein, Y. W. Chun, M.-S. Kim, and M. R. Ahuia (Eds.). Gen. Tech. Rep. RM-GTR-297. Fort Collins, CO: USDA, For. Serv., Rocky Mount. For. & Range Exp. St., 1997. P. 13–23.
- Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture // Physiol. Plant. 1962. V. 15. N. 2. P. 473–497.
- Schützendübel A., Nikolova P., Rudolf C., Polle A. Cadmium and H₂O₂-induced oxidative stress in *Populus × canescens* roots // Plant Physiol. Biochem. 2002. V. 40. Iss. 6–8. P. 577–584.
- Scott Ch. L. Environmental significance of anthocyanins in plant stress responses // Photochem. Photobiol. 1999. V. 70. Iss. 1. P. 1–9.
- Solfanelli C., Poggi A., Loreti E., Alpi A., Perata P. Sucrose-specific induction of the anthocyanin biosynthetic pathway in *Arabidopsis* // Plant Physiol. 2006. V. 140. Iss. 2. P. 637–646.
- Son S. H., Chun Y. W., Hall R. B. Cold storage of *in vitro* cultures of hybrid poplar shoots (*Populus alba* L. × *P. grandidentata* Michx.) // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 1991. V. 27. Iss. 2. P. 161–168.
- Spies T. A. The occurrence, morphology, and reproductive biology of natural hybrids of *Populus alba* in southeastern Michigan. Ann Arbor, MI: Univ. Michigan, School of Nat. Res. PhD Thesis, 1978. 125 p.
- Wang H., Wang C., Liu H., Tang R., Zhang H. An efficient *Agrobacterium*-mediated transformation and regeneration system for leaf explants of two elite aspen hybrid clones *Populus alba × P. berolinensis* and *Populus davidiana × P. bolleana* // Plant Cell Rep. 2011. V. 30. Iss. 11. P. 2037–2044.

THE GENERATION OF INTERSPECIFIC HYBRIDS IN (*Populus alba × P. bolleana*) × *P. × canescens* BY *in vitro* CULTURE

A. A. Erst, S. V. Shishkin, M. S. Voronkova

Central Siberian Botanical Garden, Russian Academy of Sciences, Siberian Branch
Zolotodolinskaya str., 101, Novosibirsk, 630090 Russian Federation

E-mail: annaerst@yandex.ru, semen751975@mail.ru, bmc_87@mail.ru

Eight variants of the Siberian silver poplar hybrid N. 12 (*Populus alba × P. bolleana*) × *P. × canescens* obtained by the method of hybridization on the harvested branches were studied. 100 % germination of *in vitro* hybrid seeds was noted. According to the type of morphogenic response, multiplication factor, the parameters of growth and development *in vitro* and *ex vitro*, there was a high variability in the characteristics of the variants obtained. Variants N. 1, 6 and 8 were characterized by the development of a conglomerate of adventive buds at the base of shoots in response to the presence of 0.5–2.5 μM 6-benzylaminopurine (BAP) in the nutrient medium, for other variants the growth of the base of the shoot and the lower leaves was followed by the formation of adventive buds. The maximum multiplication factor (20.1 pss/exp) was obtained for variant N. 8 on a medium with 2.5 μM BAP. The use of a BAP concentration of more than 2.5 μM had a negative effect, since it only led to a significant expansion of the shoot bases, lower leaves and a decrease in the multiplication factor. 100 % rhizogenesis was observed on a hormone-free medium 1/2 MS. For variant N. 8, an increased accumulation of anthocyanins by the root system was noted. When grown under *ex vitro* conditions, differences in the shape of the leaf plate of the hybrids were observed, as option variant N. 8 was characterized by the presence of leaves without lobes. It is shown that the combination of classical hybridization methods and *in vitro* methods allows the maximum use of the genetic potential of new poplar hybrids in breeding.

Keywords: *poplars white, Bollea, gray, Siberian silver poplar, hybrid progeny, morphogenesis in vitro, BAP.*

How to cite: Erst A. A., Shishkin S. V., Voronkova M. S. The generation of interspecific hybrids in (*Populus alba × P. bolleana*) × *P. × canescens* by *in vitro* culture // *Sibirskij Lesnoj Zurnal* (Sib. J. For. Sci.). 2019. N. 2: 45–52 (in Russian with English abstract).

DOI: 10.15372/SJFS20190204

© Erst A. A., Shishkin S. V., Voronkova M. S., 2019