

НОВЫЙ ДЕКОРАТИВНЫЙ ИСКУССТВЕННЫЙ ГИБРИД *ALNUS INCANA* (L.) MOENCH. × *A. HIRSUTA* (SPACH) TURCZ. EX RUPR.

Е.В. БАНАЕВ, кандидат биологических наук;

Т.И. НОВИКОВА, доктор биологических наук

Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, Новосибирск, Россия

Введение

Ольха (*Alnus* Mill.) – ценная декоративная порода. Многие ее виды обладают высоким фенотипическим полиморфизмом [1], широко используются декоративные формы, отличающиеся типом кроны, цветом, размерами, особенностями строения листовой пластинки [11, 19].

Имеется достаточно сведений о существовании естественных [5, 13, 15, 17, 20, 26] и искусственных [7, 10, 16, 18, 22] межвидовых гибридов ольхи, обладающих различными полезными свойствами и позволяющих получать семена, дающие жизнеспособное потомство с явлением гетерозиса [27]. Однако лишь немногие гибриды ольхи признаны экономически значимыми для лесного хозяйства [24].

Кроме практического значения, работы по изучению межвидовой гибридизации имеют существенную теоретическую составляющую, поскольку гибридизация считается важным эволюционным механизмом [4, 6, 8].

В Евразии наиболее широко распространены 2 близких вида – ольха серая (*A. incana* (L.) Moench.) и ольха пушистая (*A. hirsuta* (Spach) Turcz. ex Rupr.). В природе их ареалы не перекрываются, а данные об экспериментах по искусственному скрещиванию этих видов не известны.

Целью настоящей работы было изучение особенностей скрещивания ольхи серой и ольхи пушистой и оценка свойств межвидовых гибридов.

Объекты и методы исследования

В эксперименте использовали экземпляры ольхи серой и ольхи пушистой 30-летнего возраста из арборетума Центрального сибирского ботанического сада СО РАН (г. Новосибирск, Россия). Образец *A. incana* (L.) Moench. выращен из семян, полученных из Финляндии, а образец *A. hirsuta* (Spach) Turcz. ex Rupr. – из семян с российского Дальнего Востока. Фенологические наблюдения за видами в дендрарии ЦСБС, а также анализ литературных данных [9] показали, что периоды цветения *A. incana* и *A. hirsuta* на юге Западной Сибири полностью перекрываются. Пыльцу собирали в лаборатории со срезанных за 2 недели до начала цветения стеблей. До начала опытов пыльцу хранили в плотно закрытых стеклянных пробирках в морозильной камере при температуре -15°C. Опыление провели в момент массового цветения видов в обоих направлениях. После опыления изоляторы сохраняли на побегах в течение 2-х недель. Семена собирали осенью до начала раскрытия соплодий и хранили в сухом виде в холодильнике при положительной температуре 3-5°C. Проращивание семян гибридов провели весной следующего года. Перед проверкой на всхожесть в лабораторных условиях семена подвергли кратковременной стратификации при 5°C в течение 10 суток и затем инкубировали в термостате при 25°C. Предлагаемая методика была выбрана как оптимальная после проведения серии экспериментов с различными видами ольхи [3]. В качестве контроля использовали семена с растения *A. incana*, участвующего в эксперименте, но полученные от свободного опыления.

Для введения в культуру *in vitro* семена гибридов обрабатывали раствором коммерческого препарата Domestos (20%) в течение 10 мин, затем их многократно (5 раз) промывали дистиллированной водой. Стерильные семена помещали в чашки Петри на водный агар (1%) и держали в холодильнике при 5°C в течение 10 сут. Затем семена инкубировали в термостате при 27°C.

Эпикотили размером около 1 см перенесли в жидкую среду WPM [23], содержащую 20 мг/л сахарозы, 7 г/л агара и различные концентрации БАП (0,5 и 1,0 мг/л). Культуры выращивали при $25 \pm 2^\circ\text{C}$ и 16-часовом искусственном освещении. Для индукции корнеобразования побеги пассировали на S WPM, содержащей 1,0 мг/л ИМК.

При переводе растений в условия *ex vitro* их помещали в контейнеры, наполненные стерильным кварцевым песком и увлажненные S WPM. Через 1 месяц адаптации растения переносили на почвенный субстрат, содержащий торф, сосновую измельченную кору, сфагновый мох и вермикулит (1:1:1:1) для дальнейшей акклиматизации в теплице. Через 2 месяца хорошо укорененные растения помещали в питомник.

Результаты и обсуждение

В результате проведенного эксперимента выяснилось, что полноценные семена высокого качества сформировались в том и другом варианте скрещивания. Прорастание семян начиналось на третьи сутки инкубации. Период прорастания длился 7 суток, при этом гибридные семена имели более высокую энергию прорастания и более высокий процент всхожести по сравнению с контролем (табл.).

Таблица

Всхожесть семян ольхи в лабораторных условиях

Вариант скрещивания	Всхожесть на 3 сут, %	Всхожесть на 7 сут., %
<i>A. incana</i> x <i>A. hirsuta</i> (♀x♂)	91,3 ± 0,66	97,5 ± 0,21
<i>A. hirsuta</i> x <i>A. incana</i> (♀x♂)	71,8 ± 1,14	74 ± 0,97
<i>A. incana</i> (контроль)	53 ± 0,92	65,8 ± 0,84

Соотношение числа семян, проросших на 3 сутки инкубации, к общему числу проросших семян у гибридов составило 94-97%, тогда как в контроле – около 80%. Итоговая всхожесть семян *A. incana* x *A. hirsuta* превысила контроль почти на 32%. Следует отметить, что такой высокий процент всхожести (почти 100%) редко наблюдается у семян ольхи, полученных при свободном опылении, не говоря уже об искусственных межвидовых гибридах [12, 14, 27]. Обычно всхожесть семян ольхи не превышает 70%, что обусловлено наличием значительного количества пустых семян. Высокое качество семян межвидовых гибридов указывает на отсутствие у *A. incana* и *A. hirsuta* каких-либо барьеров, препятствующих скрещиванию, что представляет интерес как с теоретической, так и с практической точек зрения.

В ходе эксперимента нами было обнаружено, что около 5% проростков *A. incana* x *A. hirsuta* имели рассеченную листовую пластинку. Интересно заметить, что декоративная форма была получена только в варианте, когда материнским растением была *A. incana*. Эти проростки были отобраны для дальнейшего размножения *in vitro*.

Размножение проводили на среде WPM без добавления ауксинов. Ранее нами был показан негативный эффект этих регуляторов роста, проявляющийся в образовании каллуса у *A. incana* f. *laciniata* [2]. При введении в культуру этой декоративной формы ольхи обнаружено, что использование НУК (0,1 и 0,2 мг/л) приводило к формированию каллуса на поверхности срезов, на стеблях и листьях эксплантов. Причина активного образования каллуса связана, возможно, с высоким содержанием эндогенных ауксинов. Подобный эффект был отмечен ранее при размножении *in vitro* ольхи черной [21, 25].



Рис. 1. Кластер микропобегов *A. incana* x *A. hirsuta* на среде WPM, дополненной 0,5 мг/л БАП



Рис. 2. Адаптированные образцы *A. incana* x *A. hirsuta*

Использование среды WPM, дополненной БАП (0,5 и 1,0 мг/л), для размножения эпикотилей декоративного гибрида *A. incana* x *A. hirsuta* способствовало формированию кластеров побегов, которые отличались друг от друга в зависимости от концентрации цитокинина. Шарообразные кластеры, образовавшиеся на среде с добавлением 0,5 мг/л БАП, состояли из компактных пазушных и адвентивных побегов (рис. 1) без признаков витрификации в отличие от кластеров на фоне 1,0 мг/л БАП, состоявших из коротких ломких микропобегов. После 3-4 субкультивирований высокий уровень цитокинина вызывал нарушения развития побегов и образование каллуса.

Перенос микропобегов на среду WPM без регуляторов роста способствовал их быстрому вытягиванию, через неделю культивирования их высота составляла 8-15 мм. Затем микропобеги культивировали на среде, содержащей 1,0 мг/л ИМК для индукции корнеобразования. Дальнейшее укоренение проводили в условиях *ex vitro*, где через 4 недели растения сформировали корни второго порядка. Приживаемость декоративных регенерантов (рис. 2) в субстрате составило 100%.

Выводы

1. Отсутствуют барьеры, препятствующие скрещиванию *A. incana* и *A. hirsuta*. В природе эти виды не смешиваются лишь благодаря отсутствию контактов ареалов.
2. Искусственная гибридизация ольхи может служить источником новых декоративных форм.
3. Гибрид *A. incana* x *A. hirsuta* заметно отличается от известных рассеченнолистных форм ольхи и представляет интерес для озеленения и зеленого строительства.

Список литературы

1. Банаев Е.В., Шемберг М.А. Ольха в Сибири и на Дальнем Востоке России. – Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2000. – 99 с.
2. Особенности размножения и сохранения редких декоративных форм ольхи / Банаев Е.В., Киселева Т.И., Новикова Т.И., Черных Е.В. // Сиб. экол. журн. – 2005. – № 4. – С. 607-613.
3. Банаев Е.В., Банаева Ю.А., Киселева Т.И. Сравнительно-экологическое исследование прорастания семян в различных систематических группах рода *Alnus* Mill. s.l. // Сиб. экол. журн. – 2006. – № 2. – С. 175-179.
4. Бобров Е.Г. Интрогрессивная гибридизация во флоре Байкальской Сибири // Бот. журн. – 1961. – Т. 46, № 3. – С. 313-327.
5. Бобров Е.Г. Некоторые черты новейшей истории флоры и растительности южной

- части Дальнего Востока // Бот. журн. – 1980. – Т. 65, № 2. – С. 172-184.
6. Грант В. Видообразование у растений. – М.: Мир, 1984. – 528 с.
7. Кундзиньш А.В. Опыты искусственной гибридизации ольхи // Повышение продуктивности леса. – Рига: Зинатне, 1968. – С. 69-99.
8. Майр Э. Популяции, виды и эволюция. – М.: Мир, 1974. – 460 с.
9. Лучник З.И. Интродукция деревьев и кустарников в Алтайском крае. – М.: Колос, 1970. – 656 с.
10. Ромедер Э., Шенбах Г. Генетика и селекция лесных пород. – М.: Сельхозиздат, 1962. – 268 с.
11. Соколов С.Я., Стратонович А.И. Род 2. *Alnus* Gaertn. – Ольха // Деревья и кустарники СССР. – М., Л.: Наука, 1951. – Т. 2. – С. 334-353.
12. Щепотьев Ф.Л., Павленко Ф.А. Быстрорастущие древесные породы. – М.: Изд-во с/х лит., журн. и пл., 1962. – 373 с.
13. Юркевич И.Д., Гельтман В.С., Парфенов В.И. Сероольховые леса и их хозяйственное использование. – Минск: Изд-во АН БССР, 1963. – 142 с.
14. Asakawa S., Nagao A. Germination behavior of *Alnus inokumai* seeds // J. Japan. Forest. Soc. – 1963. – V. 45, N 10. – P. 331-334.
15. Banaev E.V., Baňant V. Study of natural hybridization between *Alnus incana* (L.) Moench. and *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. // J. For. Sc. – 2007. – N 53. – P. 66-73.
16. Chiba S. Studies on the tree improvement by means of artificial hybridization and polyploidy in *Alnus* and *Populus* species // Bull. Oji Inst. For. Tree Impr. – 1966. – N 1. – P. 1-165.
17. Fér F., Šedivý Z. Přirození kříženci olše lepkavé (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.) a olše šedé (*Alnus incana* (L.) Moench.) // Sborník Lesnické Fakulty Vysoké Školy Zemědělské v Praze. – 1963. – N 6. – P. 191-215.
18. Heitmüller H.H. Die selbstungsanalyse als möglichkeit der kombinationsprüfung bei kreuzungen innerhalb der gattung *Alnus*. Tagung für forstpflanzenzüchtung // Silv. Genet. – 1957. – N 6. – P. 158-159.
19. Hylander N. On cut-leaved and small-leaved forms of *Alnus glutinosa* and *A. incana* // Svensk. bot. tidsk. – 1957. – Bd. 51, N 2. – S. 437-453.
20. Kobendza R. Meiszance naturalne olszy szarej i czarnej w Polsce (*Alnus incana* Moench. × *Alnus glutinosa* Gaertn. – *Alnus hybrida* Alex. Braun.) // Rocznik Dend. – 1956. – N 56. – P. 57-62.
21. Lall S., Mandegaran Z., Roberts A.V. Shoot multiplication in cultures of mature *Alnus glutinosa* // Plant Cell, Tissue and Organ Cult. – 2005. – V. 83. – P. 347-350.
22. Ljunger A. Al-oh alforadling // Scoden. – 1959. – V. 46, N 5. – P. 115-117.
23. Lloyd G., McCown B. Commercially feasible micropropagation of mountain laurel *Kalmia latifolia* by use of shoot-tip culture // Proc. Inter. Pl. Prop. Soc. – 1980. – N 30. – P. 421-427.
24. Mejnartowicz L. Olsze – *Alnus* Mill. // Nasze Drewa Leśne. – 1981. – N 8. – P. 201-227.
25. Perinet P., Lalonde M. *In vitro* propagation and nodulation of the actinorhizal host plant *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. // Pl. Sci. Lett. – 1983. – N 29. – P. 9-17.
26. Steele F.L. Introgression of *Alnus serrulata* and *Alnus rugosa* // Rhodora. – 1961. – V. 63, N 755. – P. 297-304.
27. Václav E. Klíčivost semen olše (*Alnus* sp.) z křížení na mladých hybridech // Lesnický časopis. – 1963. – N 9. – P. 811-820.