

Леса России и хозяйство в них. 2025. № 1 (92). С. 169–175.

Forests of Russia and economy in them. 2025. № 1 (92). P. 169–175.

Научная статья

УДК 581.1:630.177.722

DOI: 10.51318/FRET.2025.92.1.018

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЮВЕНИЛЬНОГО МАТЕРИАЛА ПРИ МИКРОКЛОНАЛЬНОМ РАЗМНОЖЕНИИ *IN VITRO* *PINUS PINEA* L.

Абду Юссеф

Уральский государственный лесотехнический университет, Екатеринбург, Россия

abdousef86@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0001-4074-0877>

Аннотация. Предпринята политика микроклонального размножения сосны итальянской (шатровой) (*Pinus pinea* L.). Указанная сосна характеризуется высокой хозяйственной ценностью, в том числе ее семена (орешки) используются в пищу и востребованы на мировом рынке. Указанные обстоятельства объясняют большой интерес к сосне итальянской в плане использования ее при создании объектов озеленения, при лесовосстановлении и лесоразведении в районах Средиземноморья, в Сирии и других странах с жарким сухим климатом. Семена сосны итальянской долго сохраняют всхожесть, однако медленно прорастают, и выращивание значительного количества посадочного материала из семян затруднено в связи с их дефицитом из-за периодичности семеношения. Одним из путей обеспечения потребностей в посадочном материале сосны итальянской с сохранением наследственных свойств при незначительном количестве маточного материала является микроклональное размножение *in vitro*. К сожалению, до настоящего времени опыта размножения сосны итальянской на территории Российской Федерации нет. Кроме того, на Урале отсутствуют маточные деревья указанного вида сосны. В ходе исследований предпринята попытка микроклонального размножения сосны итальянской на основе 15-дневных всходов этой сосны. Для культивирования эксплантов в условиях *in vitro* использовались искусственные питательные среды, приготовленные на основе минеральных растворов (Murashige, Skoog, 1962).

Ключевые слова: сосна итальянская (шатровая) (*Pinus pinea* L.), микроклональное размножение, сохранение наследственных свойств, посадочный материал

Для цитирования: Юссеф А. Использование ювенильного материала при микроклональном размножении *in vitro* *Pinus pinea* L. // Леса России и хозяйство в них. 2025. № 1 (92). С. 169–175.

Original article

USE OF JUVENILE MATERIAL IN MICROCLONAL PROPAGATION IN VITRO *PINUS PINIA* L.

Abdoy Yossef

Ural State Forest Engineering University, Yekaterinburg, Russia
abdousef86@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0001-4074-0877>

Abstract. The article touches upon the policy of Italian pine (tent) micropropagation (*Pinus pinea* L.). The specified pine has many positive properties including seeds (nuts) which are used as food and are demanded in wored market. These circumstances explain the areat interest in Italian pine in terms of its use in forming greenery objects, in reforestation and forest growing un the Mediterranean regions, in Syria and other country with hot dry climates. Italian pine seeds retain their germination capacity for a long time. However, they germinate slowly and growing a significant amount of planting from seeds is difficult because of their deficiency the periodicity of seeds bearing. One of the ways to meet the needs for planting materials of Italian pine, the one maintaining hereditary properties with a small amount of parent material is microclonal propagation in vitro. Unfortunately, current there is no experience of Italian pine propagation in the Russian Federation. In addition there are no mother trees of this type of pine in the Urals. During the research, an attempt was made at microclonal propagation of Italian pine based on its 15-day shoots. For the cultivation of explants in vitro conditions there were used artificial nutrient media prepared on the busis of mineral solutions.

Keywords: Italian pine, mecropropagation, preservation of hereditary properties, planting material

For citation: Yossef A. Use of juvenile material in microclonal propagation in vitro *Pinus pinia* L. // Forests of Russia and economy in them. 2025. № 1 (92). P. 169–175.

Введение

Решение вопросов искусственного лесовосстановления и лесоразведения невозможно без наличия значительного количества качественного посадочного материала. Однако выращивание последнего связано с определенными сложностями. Так, большинство пород-лесообразователей характеризуется периодичностью семенных лет (Луганский и др., 2010). Кроме того, в ряде случаев семена не вызревают даже в семенной год по причине неблагоприятных погодных условий. Указанное вызывает необходимость создания значительных запасов семян и их хранения длительный период в условиях, обеспечивающих их всхожесть.

При выращивании в лесном питомнике, а затем на лесокультурной площади посадочный материал, полученный из семян, характеризуется медленным ростом, что требует многократных агротехнических и лесоводственных уходов. Он не сохраняет наследственных свойств материн-

ского дерева. Указанный недостаток исключается при вегетативном размножении. Однако большинство хвойных видов практически не размножается традиционными вегетативными способами. Поэтому до тех пор, пока не будут разработаны высокоэффективные и воспроизводимые методы вегетативного размножения для экологически и экономически важных видов (Bergmann, Stomp, 1992), наиболее эффективная система для возможного массового размножения превосходных и генно-инженерных генотипов лесных деревьев как у хвойных, так и лиственных пород – это клональное размножение in vitro (Tang, 2001). Кроме того, клональное размножение in vitro отобранных семейств или более высоких генотипов позволяет использовать максимальный генетический эффект, достигнутый в селекционных программах (Somatic embryogenesis..., 2004).

Культура in vitro дает возможность размножения *Pinus pinea* L. в больших масштабах, что

затруднено другими традиционными процедурами, такими как укоренение от выбранных сосен. Продукция клональных растений из отобранных семян этого хвойного вида посредством органогебеза была тщательно изучена (García-Ferriz et. al., 1994; Capuana, Giannini, 1995; Improvement of in vitro..., 1998; Sustained in vitro..., 2003; Sul, Korban, 2004).

Наследуемость характеристик семян, таких как длина, количество на шишку и масса шишки, высока (Sustained in vitro..., 2003), и это делает основной целью его генетического улучшения повышение количества и качества семенной продукции на дерево. Поэтому производство клонированных растений из отобранных семян путем микроразмножения было бы желательным инструментом для улучшения программ генетической селекции и средством для создания высокоурожайных плантаций.

Основным методом размножения *P. pinea* является семя, так как укоренение черенков зависит от времени года или наличия молодки (Efeito da idade..., 2007; Andrejow, Higa, 2009). Крупномасштабное производство саженцев в короткие сроки важно для программ разведения лесных видов. Высокая скорость методов микроразмножения позволяет массово размножать выбранные генотипы, полезные для улучшения деревьев и получения генетических выгод (Menziez, Aimers-Halliday, 1997).

Цель, методика и объекты исследований

Цель исследований – установление возможности использования ювенильного материала для микроклонального размножения сосны итальянской (*Pinus pinia* L.).

Учитывая сложность вегетативного размножения хвойных древесных растений и недостаток семян сосны итальянской, мы в процессе исследований использовали 15-дневные всходы указанного вида сосны для микроклонального размножения. Исходный материал – улучшенные семена, полученные с элитных деревьев с высокими генетическими характеристиками. Семена для посева были заготовлены в Сирии.

Результаты и их обсуждение

Семена сосны итальянской сохраняют свою всхожесть при хранении в сухом прохладном месте несколько лет. Привезенные на Урал семена имели давность сбора 2 года. Перед посадкой они замачивались в воде в течение 48 ч. Другой специальной обработки семян не проводилось, за исключением отбраковки пустых и поврежденных семян.

Семена были высажены в грунт, и через 22 дня появились первые всходы (рис. 1).



Рис. 1. Появление всходов сосны итальянской при посадке в лаборатории
Fig. 1. Emergence of Italian pine seedlings during planting in the laboratory

Особо следует отметить, что после посева семян ячейки с почвогрунтом обильно поливались утром и вечером.

Спустя 15 дней после появления всходов была предпринята попытка их микроклонального размножения (рис. 2).



Рис. 2. Сеянцы сосны итальянской, использованные для микроклонального размножения
Fig. 2. Seedlings of Italian pine used for microclonal propagation

После визуального осмотра сеянцев производилась их подготовка к миклональному размножению (рис. 3).

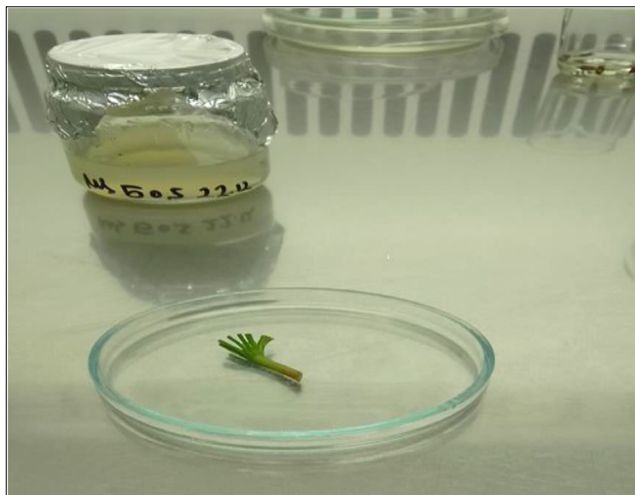


Рис. 3. Подготовка экспланты для миклонального размножения
Fig. 3. Preparation of explants for microclonal reproduction

После подготовки образцов они были стерилизованы (рис. 4), а затем высажены в специально подготовленную среду Мурасига – Скуга (МС) 0,5 и 0,1 имк (рис. 5).



Рис. 4. Стерилизация экспланты сосны итальянской
Fig. 4. Sterilization of explants of Italian pine



Рис. 5. Выращивание эксплантов на питательной среде МС
Fig. 5. Growing explants on MS nutrient medium



Для культивирования эксплантов в условиях *in vitro* использовались искусственные питательные среды, приготовленные на основе минераль-

ных растворов по методике Murashige и Skoog (Murashige, Skoog, 1962) (табл. 1 и 2).

Таблица 1

Table 1

Питательная среда по методике Мурасига – Скуга, состав и концентрация раствора
Nutrient medium, according to the Murashig – Skoog method, composition and concentration of the solution

Состав маточного раствора The composition of the mother liquor	Концентрация, г/л Concentration, g/l
Макросоли: Macrosalt:	
NH ₄ NO ₂	16,5
KNO ₃	19,0
CaCl ₂ 2H ₂ O	4,4
KH ₂ PO ₂	1,7
MgSO ₄ 7H ₂ O	3,7
Микросоли – 1: Macrosalt – 1:	
ZnSO ₄ 4H ₂ O	0,43
H ₃ BO ₃	0,31
MnSO ₄ 4H ₂ O	1,115
Микросоли – 2: Macrosalt – 2:	
CuSO ₄ 5H ₂ O	0,025
CaCl ₂ 6H ₂ O	0,025
Na ₂ M ₀ O ₄	0,25
KJ	0,83

Таблица 2

Table 2

Питательная среда по методике Мурасига – Скуга, концентрация реактива
Nutrient medium, according to the Murashig – Skoog method, reagent concentration

Наименование реактива Name of the reagent	Концентрация на 1 л раствора Concentration per 1 liter of solution
Агар-агар Agar-agar	5,6 г/г
Сахароза Sucrose	30,0 г/г
Макросоли Macrosalt	100,0 мл/мл
Макросоли – 1 Macrosalt – 1	10,0 мл/мл
Макросоли – 2 Macrosalt – 2	1 мл/мл
Железо-хелат Iron-chelate	5 мл/мл
Витамины Vitamins	10 мл/мл
ИМК ИМС	1 мл/мл
Глицин (2,0 мг/л) Glycine (2,0 mg/l)	1 мл/мл

Опыты показали развитие экспланты на питательной среде (рис. 6).

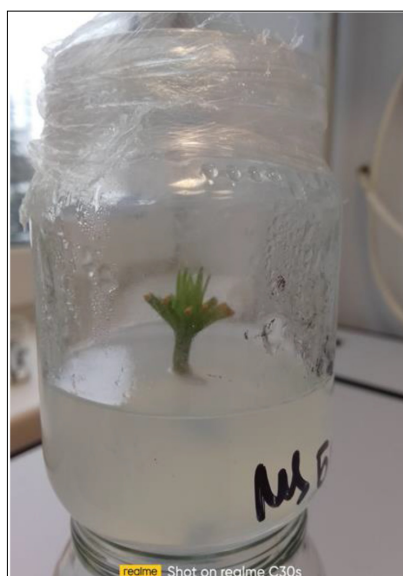


Рис. 6. Вид экспланты сосны итальянской на питательной среде спустя 13 дней после начала эксперимента

Fig. 6. Type explants of Italian pine on nutrient medium 13 days after the start of the experiment

Выводы

1. Сосна итальянская (*Pinus pinia* L.) является перспективной хвойной породой для разведения в районах Средиземноморья.

2. Увеличение площади насаждений сосны итальянской сдерживается периодичностью семенных лет и недостатком семян.

3. Семена сосны итальянской представляют из себя орешки, которые можно использовать в пищу.

4. Семена сохраняют всхожесть при хранении в сухом прохладном месте в течение нескольких лет.

5. Для успешного прорастания семени перед посевом следует замачивать в теплой воде на 48 ч.

6. Семена прорастают через 3–4 недели после посева при условии обильного полива утром и вечером.

7. Спустя 15 дней после прорастания всходы могут быть использованы для микроклонального размножения.

8. Учитывая ценность сосны итальянской для лесовосстановления и лесоразведения опыты по ее микроклональному размножению следует продолжать с целью разработки технологии размножения.

Список источников

- Луганский Н. А., Залесов С. В., Луганский В. Н. Лесоведение. Екатеринбург : Урал. гос. лесотехн. ун-т, 2010. 432 с.
- Andrejow G. M. P., Higa A. R. Potencial de enraizamento de miniestacas de *Pinus taeda* L. provenientes de brotação apical de mudas jovens // Floresta. 2009. № 39. P. 897–903.
- Bergmann B. A., Stomp A. M. Influence of taxonomic relatedness and medium composition on meristematic nodule and adventitious shoot formation in nine pine species // Can J For Res. 1992. № 22. P. 750–755. DOI: 10.1139/x92-101
- Capuana M., Giannini R. In vitro plantlets regeneration from embryonic explants of *Pinus pinea* L., In Vitro Cell Dev // Biol. Plant. 1995. № 31. P. 202–206.
- Efeito da idade da muda e da estação do ano no enraizamento de miniestacas de *Pinus taeda* L. / G. B. Alcantara, L. L. F. Ribas, A. R. Higa [et al.] // Revista Árvore 31. 2007. P. 399–404.
- García-Ferriz L., Serrano L., Pardos J. A. In vitro shoot organogenesis from excised immature cotyledons and microcuttings production in stone pine // Plant Cell Tissue Organ Cult. 1994. № 36. P. 135–140.
- Improvement of in vitro adventitious shoot formation on cotyledons of *Pinus pinea* L. / M. V. Gonzalez, M. Rey, R. Tavazza [et al.] // HortScience. 1998. № 33. P. 749–750.
- Menzies M. I., Aimers-Halliday J. A. Propagation options for clonal forestry with *Pinus radiata* // IUFRO '97 Genetics of Radiata Pine, 1–5 December, 1997. Rotorua, New Zealand, 1997. P. 256–263.
- Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiologia Plantarum. 1962. Vol. 15. P. 73–97.
- Somatic embryogenesis from 20 open-pollinated families of Portuguese plus trees of maritime pine / C. Migue, Gonc, S. Alves [et al.] // Plant Cell Tissue Organ Cult. 2004. № 76. P. 121–130. DOI:10.1023/B:TICU.0000007253.91771.e3
- Sul I. W., Korban S. S. Effects of salt formulations, carbon sources, cytokinins, and auxin on shoot organogenesis from cotyledons of *Pinus pinea* L. // Plant Growth Regul. 2004. № 43. P. 197–205.
- Sustained in vitro root development obtained in *Pinus pinea* L. inoculated with ectomycorrhizal fungi / P. Oliveira, J. Barriga, C. Cavaleiro [et al.] // Forestry. 2003. 76. P. 579–587.
- Tang W. In vitro regeneration of loblolly pine and random amplified polymorphic DNA analyses of regenerated plantlets // Plant Cell Rep. 2001. № 20. P. 163–168. DOI:10.1007/s002990000297

References

- Andrejow G. M. P., Higa A. R.* Potencial de enraizamento de miniestacas de *Pinus taeda* L. provenientes de brotação apical de mudas jovens // Floresta. 2009. № 39. P. 897–903.
- Bergmann B. A., Stomp A. M.* Influence of taxonomic relatedness and medium composition on meristematic nodule and adventitious shoot formation in nine pine species // Can J For Res. 1992. № 22. P. 750–755. DOI: 10.1139/x92-101
- Capuana M., Giannini R.* In vitro plantlets regeneration from embryonic explants of *Pinus pinea* L., In Vitro Cell Dev // Biol. Plant. 1995. № 31. P. 202–206.
- Efeito da idade da muda e da estação do ano no enraizamento de miniestacas de *Pinus taeda* L. / *G. B. Alcantara, L. L. F. Ribas, A. R. Higa* [et al.] // Revista Árvore 31. 2007. P. 399–404.
- García-Ferriz L., Serrano L., Pardos J. A.* In vitro shoot organogenesis from excised immature cotyledons and microcuttings production in stone pine // Plant Cell Tissue Organ Cult. 1994. № 36. P. 135–140.
- Improvement of in vitro adventitious shoot formation on cotyledons of *Pinus pinea* L. / *M. V. Gonzalez, M. Rey, R. Tavazza* [et al.] // HortScience. 1998. № 33. P. 749–750.
- Lugansky N. A., Zalesov S. V., Lugansky V. N.* Forest Science. Yekaterinburg : Ural State Forest Engineering University, 2010. 432 p.
- Menzies M. I., Aimers-Halliday J. A.* Propagation options for clonal forestry with *Pinus radiata* // IUFRO '97 Genetics of Radiata Pine, 1–5 December, 1997. Rotorua, New Zealand, 1997. P. 256–263.
- Murashige T., Skoog F.* A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiologia Plantarum. 1962. Vol. 15. P. 73–97.
- Somatic embryogenesis from 20 open-pollinated families of Portuguese plus trees of maritime pine / *C. Migue, Gonc, S. Alves* [et al.] // Plant Cell Tissue Organ Cult. 2004. № 76. P. 121–130. DOI:10.1023/B:TICU.0000007253.91771.e3
- Sul I. W., Korban S. S.* Effects of salt formulations, carbon sources, cytokinins, and auxin on shoot organogenesis from cotyledons of *Pinus pinea* L. // Plant Growth Regul. 2004. № 43. P. 197–205.
- Sustained in vitro root development obtained in *Pinus pinea* L. inoculated with ectomycorrhizal fungi / *P. Oliveira, J. Barriga, C. Cavaleiro* [et al.] // Forestry. 2003. 76. P. 579–587.
- Tang W.* In vitro regeneration of loblolly pine and random amplified polymorphic DNA analyses of regenerated plantlets // Plant Cell Rep. 2001. № 20. P. 163–168. DOI:10.1007/s002990000297

Информация об авторах

A. Юссеф – аспирант.

Information about the authors

A. Yossef – graduate student.

Статья поступила в редакцию 10.12.2024; принята к публикации 15.01.2024.

The article was submitted 10.12.2024; accepted for publication 15.01.2024.
