

АНАЛИЗ ИЗМЕНЧИВОСТИ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ПРИЗНАКОВ У РЕГЕНЕРАНТОВ *CUPRESSUS MACROCARPA* IN VITRO

Т.П. КУНАХОВЕЦ¹, В.В. САМОЙЛОВИЧ¹, О.А. КУДРЯШОВА¹,
А.А. ВОЛОТОВИЧ¹, Л.А. ЖИЗНЕВСКАЯ², О.Ю. АРТЕМЧУК²

¹Полесский государственный университет,

г. Пинск, Республика Беларусь, volant777@tut.by

²Республиканский лесной селекционно-семеноводческий центр,

п/о. Щомыслица, Минская область, Республика Беларусь

Введение. Размножение представителей отдела Хвойные (Pinophyta) перспективно как для ландшафтного озеленения, так и для восстановления лесов. Тем не менее, наблюдается слабый прогресс в методах размножения, главным образом из-за проблемы укоренения, связанной с фазой созревания дерева, с возрастными процессами развития, которые воздействуют на репродуктивную компетенцию, морфологию и скорость роста [1].

Для экономически важных лесных хвойных пород развивается альтернативное вегетативному размножению микроразмножение *in vitro*. Преимущества соматического эмбриогенеза перед укоренением черенков: неограниченное число клонов, произведенных из одного эмбриона (без выделения этапа адвентивного укоренения) и возможность долгое время сохранять генотип в жидком азоте (криосохранение) [2].

Адвентивное корнеобразование является критическим этапом в вегетативном размножении. Интенсивное повреждение стеблей может привести к существенному увеличению выхода укорененных растений с высоким качеством корневой системы [3].

Адвентивное корнеобразование это сложный процесс развития, состоящий из трех физиологических фаз: индукции, инициации и экспрессии. К каждой фазе предъявляются свои требования. Фаза индукции предполагает молекулярные и биохимические события без видимых изменений. Фаза инициации характеризуется клеточными делениями и образованием корневых примордиев. Фаза экспрессии характеризуется внутрестеблевым ростом корневых примордиев и появлением корней [4].

На укоренение воздействуют химические и физические факторы, включая регуляторы роста растений [5, 6], источник углеводов [7], температура и свет [8, 9].

Различают 4 дискретных стадии адвентивного корнеобразования у черенков: пролиферация клеток у основания черенка, дифференцировка сосудистой ткани и перидермы, дедифференцировка зоны вблизи камбия и флоэмы для образования корневых инициальных клеток, формирование корневой меристемы [10]. Для получения высококачественных молодых растений за кратчайший срок черенки должны укореняться быстро и массово. Для получения качественных черенков должно быть здоровым и хорошо плодоносящим растение-донор. В последние годы экономическая ситуация подводит нас к тому, что требуется более экономически эффективный способ размножения качественного материала хвойных растений с предшествующим ему оздоровлением – микроразмножение *in vitro*.

Для укоренения хвойных растений, как правило, используется ИМК [11]. С другой стороны, многие хвойные растения отвечают на импульсную обработку НУК. Хотя ИМК ускоряет укоренение черенков у большинства хвойных в концентрациях 24,6–49,0 мкМ в смеси с тальком, у видов рода *Pinus* обычно используется НУК в концентрациях 1,6–2,7 мкМ. Часто ИМК в указанном диапазоне концентраций используется в водном растворе для импульсной обработки поверхностей среза, после чего черенки переносятся в субстрат или в воду. В качестве субстрата в подавляющем большинстве случаев используются смеси песка, перлита и/или вермикулита. Самый высокий процент укоренения хвойных растений *ex vitro* достигал 86%. Процент укоренения хвойных *in vitro* очень сильно варьирует в зависимости от генотипа и условий укоренения (от 6 до 100%). Индукцию корнеобразования обычно проводят либо импульсной обработкой с переносом в твердый стерильный субстрат [12], либо с использованием агаризованных сред с добавлением ауксинов [13–15], либо с использованием агаризованных сред без гормонов, иногда после импульсной предобработки [16–18].

Укоренение микрочеренков хвойных *in vitro* обычно происходит в желейной среде, что позволяет равномерно распределяться питательным веществам и обеспечивает лучший контакт между

побегами и субстратом [19]. Тем не менее, качество полученных корней не всегда удовлетворительное. Железная среда возможно нарушает газообмен и ингибирует развитие сосудистой системы в корнях, так же как и образование корневых волосков [20].

Для туи западной *Thuja occidentalis* L. отмечено адвентивное корнеобразование (из зиготических эмбрионов) на среде ½ MS с 25мМ ИМК, 3% сахарозы и 0,7% агар-агаром, с последующим переносом в автоклавированный субстрат «Redi-Earth», в котором на протяжении 3–4 недель, при +20°C и фотопериоде 16ч/8ч укоренялось 60% материала [21]. Для *Juniperus oxycedrus* при укоренении *in vitro* отмечен самый низкий процент укоренения – 7–10% [13], а для лиственницы *Larix* sp. – самый высокий (100%) [14].

В настоящей статье приведены результаты анализа изменчивости четырех количественных признаков у регенерантов кипариса крупноплодный *Cupressus macrocarpa* Hartw. & Gordon *in vitro* на питательных, агаризованных средах с органическими соединениями, на макро-, микросолевой основе Андерсона (AN – среда для культивирования древесных растений), различающихся по составу ауксинов и цитокининов.

Методика и объекты исследования. Исследования проводили на базе биотехнологической лаборатории НИЛ клеточных технологий в растениеводстве УО «Полесский государственный университет» в октябре–декабре 2012 года.

В качестве объекта исследований использовали растения *Cupressus macrocarpa* Hartw. & Gordon, введенные и стабилизированные в культуре *in vitro* по методу, разработанному на базе НИЛ клеточных технологий в растениеводстве УО «Полесский государственный университет» и изложенному в заявке о выдаче патента на изобретение №А20111446 от 31.10.2011 г.

В качестве основы агаризованной, питательной среды для укоренения введенных, стабилизированных и размножаемых в культуре *in vitro* регенерантов использовали половинный состав среды Андерсона [22, 23], содержащей аммоний азотнокислый, калий азотнокислый, магний сернокислый, натрия гидрофосфат двенадцативодный, кальция хлорид, марганец сернокислый, цинк сернокислый, медь сернокислую пятиводную, борную кислоту, кобальта хлорида шестиводного, натрий молибденовокислый, калия иодид, железо (II) сернокислое, трилон Б, тиамин хлорид, аденина сульфат, мезо-инозитол, сахарозу, агар-агар, при следующем соотношении компонентов в мг/л:

кальция хлорид	166,010
калий азотнокислый	240,000
аммоний азотнокислый	200,000
натрий гидрофосфат двенадцативодный	416,740
магний сернокислый семиводный	185,000
железо (II) сернокислое семиводное	15,650
трилон Б	21,050
марганец сернокислый одноводный	8,450
цинк сернокислый семиводный	4,300
борную кислоту	3,100
калия иодид	0,150
натрий молибденовокислый двухводный	0,125
медь сернокислую пятиводную	0,012
кобальта хлорид шестиводный	0,012
мезо-инозитол	50,000
аденина сульфата	40,000
тиамин хлорида	0,200
сахароза	15000,000
агар-агар	8000,000
вода деионизированная	остальное

Кислотность (рН) питательной среды указанного состава перед автоклавированием составляет 4,8–5,0. Автоклавирование питательной среды осуществляется на протяжении 25 мин при температуре +121°C.

В качестве гормональных добавок в составах питательных сред (эксперименты по укоренению *in vitro*) использовали ауксины (ИМК, ИУК) и зеатин.

ИМК растворяли в 96% этиловом спирте и применяли до автоклавирования в исследуемых концентрациях 0,1; 0,5; 1,0 мг/л.

ИУК растворяли в 1н растворе NaOH и применяли до автоклавирования в исследуемых концентрациях 0,1; 0,5; 1,0 мг/л.

Зеатин растворяли в 0,5н растворе соляной кислоты HCl и добавляли в стерильную среду после автоклавирования в концентрации 0,1 мг/л, при этом pH питательной среды снижается с 5,0 до оптимальной величины 4,8.

Общее количество анализируемых регенерантов для каждого варианта опыта составило не менее 100 шт. (четыре стеклянные емкости, по 25 регенерантов в каждой).

Регенеранты для дальнейшего использования в экспериментах по укоренению получали в результате культивирования эксплантов в колбах конических (объемом по 100 мл, из расчета 25 эксплантов на колбу) с 25 мл стерильной агаризованной, питательной среды на микро-, макро- солевой основе, с органическими соединениями Андерсона, содержащей фитогормоны, в соответствии с приведенными ниже схемами и вариантами опыта (из расчета не менее 4 колб для каждого варианта опыта, включая контроль):

1. Контроль – среда Андерсона без фитогормонов
2. Среда Андерсона с 0,1 мг/л ИУК
3. Среда Андерсона с 0,5 мг/л ИУК
4. Среда Андерсона с 1,0 мг/л ИУК
5. Среда Андерсона с 0,1 мг/л ИМК
6. Среда Андерсона с 0,5 мг/л ИМК
7. Среда Андерсона с 1,0 мг/л ИМК
8. Среда Андерсона с 0,1 мг/л ИУК и 0,1 мг/л ИМК
9. Среда Андерсона с 0,5 мг/л ИУК и 0,5 мг/л ИМК
10. Среда Андерсона с 1,0 мг/л ИУК и 1,0 мг/л ИМК
11. Среда Андерсона с 0,1 мг/л ИУК и 0,1 мг/л зеатина
12. Среда Андерсона с 0,5 мг/л ИУК и 0,1 мг/л зеатина
13. Среда Андерсона с 1,0 мг/л ИУК и 0,1 мг/л зеатина
14. Среда Андерсона с 0,1 мг/л ИМК и 0,1 мг/л зеатина
15. Среда Андерсона с 0,5 мг/л ИМК и 0,1 мг/л зеатина
16. Среда Андерсона с 1,0 мг/л ИМК и 0,1 мг/л зеатина
17. Среда Андерсона с 0,1 мг/л ИУК; 0,1 мг/л ИМК и 0,1 мг/л зеатина
18. Среда Андерсона с 0,5 мг/л ИУК; 0,5 мг/л ИМК и 0,1 мг/л зеатина
19. Среда Андерсона с 1,0 мг/л ИУК; 1,0 мг/л ИМК и 0,1 мг/л зеатина

Учет анализируемых признаков – высота регенерантов, количество побегов, сырой вес регенеранта, укореняемость регенерантов – проводили через 5 недель культивирования на стеллажах световой установки культурального помещения биотехнологической лаборатории при температуре +25°C, фотопериоде день/ночь – 16ч/8ч, освещенности 4000 лк (2 люминесцентных лампы OSRAM L36W/76 Natura), относительной влажности воздуха 70%.

Общий математический анализ данных проводили по стандартным методам вариационной статистики [24] с использованием программы статистического анализа данных STATISTICA 6.0 [25]. Двухфакторный дисперсионный анализ данных и расчет доли влияния факторов на изменчивость исследуемых признаков проводили в программе статистического анализа AB-Stat 1.0, разработанной в Институте генетики и цитологии НАН Беларуси [26].

Результаты и их обсуждение. Результаты исследований *in vitro* приведены в таблицах 1–2.

Следует отметить тот факт, что корнеобразование у регенерантов кипариса крупноплодного *in vitro* отсутствовало во всех исследуемых вариантах опыта, включая контроль.

Анализ изменчивости исследуемых признаков – высоты регенерантов, количества побегов и сырого веса регенерантов *in vitro* указывает на достоверные (в большинстве случаев при $P < 0,01$) отличия в вариантах опыта с зеатином, по сравнению с контролем (табл. 1). В присутствии 0,1 мг/л зеатина количество побегов увеличивалось достоверно в 1,3–2,0 раза, в зависимости от варианта опыта, а сырой вес регенерантов увеличивался в 1,6–2,2 раза. Высота регенерантов достоверно (при $P < 0,05$) изменялась только в двух случаях, в присутствии 0,1 мг/л зеатина. При этом происходило достоверное уменьшение величины признака в 1,2 раза. Анализ изменчивости высоты регенерантов установил тенденцию увеличения показателей признака с ростом концентрации ИУК от 0,1 до 1,0 мг/л в составе питательной среды, как при самостоятельном использовании, так и в присутствии 0,1 мг/л зеатина (табл. 1, варианты 2–4, 11–13).

Таблица 1 – Изменчивость количественных признаков у регенерантов *Cupressus macrocarpa in vitro*

Вариант опыта	ВР, см	КП, шт.	СВР, г
Контроль – АН без фитогормонов	0,85±0,01	1,45±0,11	0,0147±0,0015
АН+ИУК _{0,1}	0,82±0,06	1,56±0,08	0,0163±0,0019
АН+ИУК _{0,5}	0,85±0,04	1,31±0,06	0,0137±0,0003
АН+ИУК _{1,0}	0,88±0,06	1,59±0,05	0,0170±0,0030
АН+ИМК _{0,1}	0,88±0,07	1,28±0,14	0,0157±0,0014
АН+ИМК _{0,5}	0,85±0,01	1,26±0,05	0,0133±0,0008
АН+ИМК _{1,0}	0,89±0,03	1,32±0,12	0,0150±0,0012
АН+ИУК _{0,1} +ИМК _{0,1}	0,88±0,03	1,27±0,07	0,0127±0,0009
АН+ИУК _{0,5} +ИМК _{0,5}	0,84±0,01	1,37±0,08	0,0137±0,0012
АН+ИУК _{1,0} +ИМК _{1,0}	0,86±0,05	1,33±0,09	0,0150±0,0015
АН+ИУК _{0,1} +Z _{0,1}	0,74±0,01	2,88±0,15**	0,0250±0,0012*
АН+ИУК _{0,5} +Z _{0,1}	0,76±0,05	2,79±0,12**	0,0317±0,0073**
АН+ИУК _{1,0} +Z _{0,1}	0,81±0,01	2,70±0,19**	0,0270±0,0025**
АН+ИМК _{0,1} +Z _{0,1}	0,72±0,01*	2,60±0,16**	0,0247±0,0019*
АН+ИМК _{0,5} +Z _{0,1}	0,72±0,05*	2,47±0,09**	0,0247±0,0027*
АН+ИМК _{1,0} +Z _{0,1}	0,79±0,05	1,84±0,26*	0,0230±0,0038*
АН+ИУК _{0,1} +ИМК _{0,1} +Z _{0,1}	0,78±0,07	2,05±0,09**	0,0220±0,0015
АН+ИУК _{0,5} +ИМК _{0,5} +Z _{0,1}	0,87±0,05	2,66±0,09**	0,0317±0,0043**
АН+ИУК _{1,0} +ИМК _{1,0} +Z _{0,1}	0,77±0,04	2,52±0,15**	0,0250±0,0023*
НСР _{0,05}	0,13	0,36	0,0078
НСР _{0,01}	0,17	0,49	0,0104

Примечание – * – достоверно отличается от контроля при $P<0,05$; ** – при $P<0,01$; СВР – сырой вес регенеранта, г; ВР – высота регенерантов, см; КП – количество побегов, шт.; НСР – наименьшая существенная разница при уровнях значимости $P<0,05$ и $P<0,01$; АН – среда Андерсона; Z – зеатин; то же для таблицы 2

Таблица 2 – Однофакторный дисперсионный анализ изменчивости количественных признаков у регенерантов *Cupressus macrocarpa in vitro*

ИВ	df	ВР		КП		СВР	
		СК	ДВ,%	СК	ДВ,%	СК	ДВ,%
Общее	56	0,007	100,0	0,411	100,0	0,000	100,0
Фактор А (состав среды)	18	0,010	44,2	1,181**	92,3	0,001**	72,9
Повторности	2	0,002	1,1	0,023	0,2	0,000	0,7
Случайные отклонения	36	0,006	54,7	0,048	7,5	0,000	26,4

Примечание – ИВ – источник варьирования; СК – средний квадрат; ДВ – доля влияния фактора

При одновременном использовании ИУК и ИМК подобной тенденции не наблюдалось. В присутствии 0,1 мг/л зеатина в подавляющем большинстве случаев происходило снижение показателей высоты регенерантов по сравнению с контролем, достоверное при сочетании зеатина с 0,1 или 0,5 мг/л ИМК (табл. 1).

Анализ изменчивости количества побегов установил тенденцию увеличения показателей признака с ростом концентрации ИМК от 0,1 до 1,0 мг/л в составе питательной среды при самостоятельном применении фитогормона (табл. 1, варианты 5–7). При одновременном использовании ИМК и зеатина наблюдалась обратная тенденция – уменьшение величины показателей признака с ростом концентрации ИМК от 0,1 до 1,0 мг/л в составе питательной среды (табл. 1, варианты 14–16). В подавляющем большинстве случаев в присутствии только ауксинов происходило несущественное уменьшение показателей признака, а при сочетании ауксинов и зеатина – достоверное и существенное увеличение показателей признака по отношению к контролю (табл. 1).

Анализ изменчивости сырого веса регенерантов установил тенденцию увеличения показателей признака с ростом концентраций ИУК и ИМК от 0,1 до 1,0 мг/л в составе питательной среды при одновременном использовании фитогормонов (табл. 1, варианты 8–10). При использовании ауксинов по отдельности с ростом концентрации от 0,1 до 0,5 мг/л показатели признака уменьшались, а при дальнейшем возрастании концентрации ауксина до 1,0 мг/л – возрастали практически до исходных значений (табл. 1, варианты 2–7). Во всех случаях в присутствии только ауксинов происходили несущественные, либо уменьшение, либо увеличение показателей признака, а при сочетании ауксинов и зеатина – достоверное и существенное увеличение показателей признака по отношению к контролю во всех случаях за единственным исключением (табл. 1). В присутствии 0,1 мг/л зеатина максимальные значения признака наблюдались в вариантах опыта с 0,5 мг/л ИУК (табл. 1, варианты 12 и 18).

Однофакторный дисперсионный анализ установил достоверное (при $P < 0,01$) влияние фитогормонального состава среды на изменчивость количества побегов и сырого веса регенерантов, с долей влияния фактора 92% и 73%, соответственно (табл. 2).

Выводы.

На среде Андерсона *in vitro* не удалось добиться корнеобразования у регенерантов *Cupressus macrocarpa* Hartw. & Gordon. в присутствии фитогормонов: ауксинов – ИУК, ИМК, и цитокинина – зеатин. У регенерантов в контроле корни также отсутствовали.

Достоверные (в большинстве случаев при $P < 0,01$) отличия по сравнению с контролем наблюдались только в вариантах опыта с зеатином в концентрации 0,1 мг/л.

В присутствии 0,1 мг/л зеатина количество побегов увеличивалось достоверно в 1,3–2,0 раза, в зависимости от варианта опыта, сырой вес регенерантов увеличивался в 1,6–2,2 раза.

Высота регенерантов достоверно (при $P < 0,05$) уменьшалась в 1,2 раза только в присутствии 0,1 мг/л зеатина и ИМК в концентрациях 0,1–0,5 мг/л.

Анализ изменчивости высоты регенерантов установил тенденцию увеличения показателей признака с ростом концентрации ИУК от 0,1 до 1,0 мг/л в составе питательной среды, как при самостоятельном использовании, так и в присутствии 0,1 мг/л зеатина.

Анализ изменчивости количества побегов установил тенденцию увеличения показателей признака с ростом концентрации ИМК от 0,1 до 1,0 мг/л в составе питательной среды при самостоятельном применении фитогормона, в то время как при одновременном использовании ИМК и зеатина наблюдалась обратная тенденция – уменьшение величины показателей признака с ростом концентрации ИМК от 0,1 до 1,0 мг/л.

Анализ изменчивости сырого веса регенерантов установил тенденцию увеличения показателей признака с ростом концентраций ИУК и ИМК от 0,1 до 1,0 мг/л в составе питательной среды при одновременном использовании фитогормонов.

Однофакторный дисперсионный анализ установил достоверное (при $P < 0,01$) влияние фактора 'варианты опыта' на изменчивость только количества побегов и сырого веса регенерантов с долями влияния фактора 92% и 73%, соответственно.

ЛИТЕРАТУРА

1. Greenwood, M.S. Maturation as a developmental process / M.S. Greenwood, K.W. Hutchison. – Clonal forestry. – New York: Springer, 1993. – P. 14–33.
2. Klimaszewska, K. Recent progress in somatic embryogenesis of four Pinus spp. / K. Klimaszewska, J.-F. Trontin, M.R. Becwar, C. Devillard, Y.-S. Park, M.A. Lelu-Walter // Glob. Sci. Books Tree For Sci. Biotechnol. – 2007. – Vol. 1. – P. 11–25.
3. De Klerk, G.J. Effectiveness of indoleacetic acid, indolebutyric acid and naphthaleneacetic acid during adventitious root formation *in vitro* in *Malus* «Jork 9» / G.J. De Klerk, J. Ter Brugge, S. Marinova // Plant Cell Tissue Organ Cult. – 1997. – Vol. 49. – P. 39–44.
4. Li, S.W. Mediators, genes and signaling in adventitious rooting / S.W. Li, L. Xue, S. Xu, H. Feng, L. An // Bot. Rev. – 2009. – Vol. 75. – P. 230–247.
5. Wiesman, Z. Paclobutrazol and ureaphosphate increase rooting and survival of peach «Maravilha» softwood cuttings / Z. Wiesman, J. Riov, E. Epstein // HortScience. – 1989. – Vol. 24. – P. 908–909.
6. Davis, T.D. Chemical control of adventitious root formation in cuttings / T.D. Davis, B.E. Haissig // Plant Growth Regul. Soc. Am. Q. – 1990. – Vol. 18. – P. 1–18.
7. Wiesman, Z. Enhancement of IBA stimulatory effect on rooting of olive cultivar stem cutting / Z. Wiesman, S. Lavee // Sci. Hort. – 1995. – Vol. 65. – P. 189–198.
8. Haissig, B.E. Reduced irradiance and applied auxin influence carbohydrate relations in Pinus banksiana cuttings during propagation / B.E. Haissig // Physiol. Plant. – 1990. – Vol. 78. – P. 455–461.

9. Correa, L.R. Effects of temperature on adventitious root development in microcuttings of *Eucalyptus saligna* Smith and *Eucalyptus globulus* Labill. / L.R. Correa, A.G. Fett-Neto // J. Therm. Biol. – 2004. – Vol. 29. – P. 315–324.
10. Hamann, A. Adventitious root formation in cuttings of loblolly pine (*Pinus taeda* L.): developmental sequence and effects of maturation / A. Hamann // Trees. – 1998. – Vol. 12. – P. 175–180.
11. Ragonezi, C. Adventitious rooting of conifers: influence of physical and chemical factors / C. Ragonezi, K. Klimaszewska, M.R. Castro, M. Lima, P. de Oliveira, M.A. Zavattieri // Trees. – 2010. – Vol. 24. – P. 975–992.
12. Martinez, P. In vitro regeneration of plantlets of Canary Island pine (*Pinus canadiensis*) / P. Martinez, I.S. Harry, T.A. Thorpe // Can. J. For Res. 1990. – Vol. 20. – P. 1200–1211.
13. Gomez, M.P. Axillary shoot proliferation in cultures of explants from mature *Juniperus oxycedrus* trees / M.P. Gomez, J. Segura // Tree Physiol. – 1994. – Vol. 15. – P. 625–628.
14. Ewald, D. Micropropagation of *Larix* species via organogenesis / D. Ewald. – In: Protocols for micropropagation of woody trees and fruits. – Dordrecht: Springer, 2007. – P. 125–136.
15. Ishii, K. Micropropagation of *Pinus armandii* var. *amamiana* / K. Ishii, Y. Hosoi, E. Maruyama. – In: Dordrecht: Springer, 2007. – P. 41–50.
16. Loureiro, J. Micropropagation of *Juniperus phoenicea* from adult plant explants and analysis of ploidy stability using flow cytometry / J. Loureiro, A. Capelo, G. Brito, E. Rodriguez, S. Silva, G. Pinto, C. Santos // Biol. Plant. – 2007. – Vol. 51. – P. 7–14.
17. Drake, P. Cytokinin pulse-mediated shoot organogenesis from cotyledons of Sitka spruce (*Picea sitchensis* (Bong.) Carr.) and high frequency in vitro rooting of shoots / P. Drake, A. John, J.B. Power, M.R. Davey // Plant Cell Tissue Organ Cult. – 1997. – Vol. 50. – P. 147–151.
18. Lopez-Escamilla, A.L. Adventitious bud formation from mature embryos of *Picea chihuahuana* Martinez an endangered Mexican spruce tree / A.L. Lopez-Escamilla, L.P. Olguin-Santos, J. Marquez, V.M. Chavez, R. Bye // Ann. Bot. – 2000. – Vol. 86. – P. 921–927.
19. Mohammed, G.H. The influence of acclimatization treatment and plantlet morphology on early greenhouse performance of tissue-cultured Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco) / G.H. Mohammed, W.E. Vidaver // Plant Cell Tissue Organ Cult. – 1990. – Vol. 21. – P. 111–117.
20. Skolmen, R.G. Aftercare procedures required for field survival of tissue culture propagated *Acacia koa* / R.G. Skolmen, M.O. Mapes // Comb Proc Int Plant Prop Soc. – 1978. – Vol. 28. – P. 156–164.
21. Harry, I.S. In vitro plantlet formation from embryonic explants of eastern white cedar (*Thuja occidentalis* L.) / I.S. Harry, M.R. Thompson, C.Y. Lu, T. A. Thorpe // Tree Physiol. – 1987. – Vol. 3. – P. 273–283.
22. Trigiano, R.N. Plant tissue culture concepts and laboratory exercises / R.N. Trigiano, D.J. Gray. – US/MA, CRC Press LLC., 1999–2000. – 454 p.
23. Сидорович, Е.А. Клональное микроразмножение новых плодово-ягодных растений / Е.А. Сидорович, Е.Н. Кутас – Минск, 1996. – 246 с.
24. Доспехов, Б.А. Методика полевого опыта / Б.А. Доспехов. – М.: Агропромиздат, 1985. – 350 с.
25. Боровиков, В.П. СТАТИСТИКА: Искусство анализа данных на компьютере / В.П. Боровиков. – СПб: Питер, 2001. – 688 с.
26. Анощенко, Б.Ю. Программы анализа и оптимизации селекционного процесса растений / Б.Ю. Анощенко // Генетика. – М.: Наука, 1994. – Т.30. – Приложение. – С. 8–9.

ANALYSIS OF VARIABILITY OF QUANTITATIVE TRAITS AT REGENERANTS OF CUPRESSUS MACROCARPA IN VITRO

***T.P. KUNAKHOVEC, V.V. SAMOILOVICH, O.A. KUDRYASHOVA,
A.A. VOLOTOVICH, L.A. ZHIZNEVSKAYA, O.U. ARTEMCHUK***

Summary

In the present article are given the results of the analysis of variability of four quantitative traits at regenerants of Monterey cypress *Cupressus macrocarpa* Hartw. & Gordon in vitro on nutrient, agarized Anderson's mediums with organic compounds, on macro- and microsalt basis differing on structure of auxins (IAA and IBA), and cytokinin zeatin. Reliable differences in most cases at $P < 0.01$ were observed only in experience variants with zeatin of 0.1 mg per liter in comparison with control. Thus, depending on experience variant the number of shoots increased authentically by 1.3–2.0 times; the crude weight of regenerants increased by 1.6–2.2 times. Height of regenerants authentically (at $P < 0.05$) decreased by 1.2 times in the presence of 0.1 mg/l of zeatin and IBA in concentration of 0.1–0.5 mg/l. Tendencies of variability of analyzed traits with growth of concentration of studied phytohormones are established. The one-factorial dispersive analysis established reliable (at $P < 0.01$) 'experience variants' factor influence on variability of number of shoots and crude weight of regenerants with shares of influence of factor of 92% and 73%, respectively.

© Кунаховец Т.П., Самойлович В.В., Кудряшова О.А.,
Волотович А.А., Жизневская Л.А., Артемчук О.Ю.

Поступила в редакцию 17 марта 2013г.