

УДК 630*232:631.589.2+674.031.623.234.2

АДАПТАЦИЯ ТРИПЛОИДНОЙ ОСИНЫ К УСЛОВИЯМ *ex vitro* С ПРИМЕНЕНИЕМ ГИДРОПОННОЙ УСТАНОВКИ

С. С. Макаров^{1, 2}, А. М. Антонов², Ю. В. Александрова²,
О. П. Лебедева², И. Б. Кузнецова³

¹ Российский государственный аграрный университет –
Московская сельскохозяйственная академия имени К. А. Тимирязева
127434, Москва, ул. Тимирязевская, 49

² Северный (Арктический) федеральный университет имени М. В. Ломоносова
163002, Архангельск, наб. Северной Двины, 17

³ Костромская государственная сельскохозяйственная академия
156530, Костромская обл., Костромской р-н, п. Караваево, Учебный городок, Караваевская с/а, 34

E-mail: makarov_serg44@mail.ru, a.antonov@narfu.ru, yu.aleksandrova@narfu.ru,
o.lebedeva@narfu.ru, sonnereiser@yandex.ru

Поступила в редакцию 18.01.2023 г.

Приведены результаты исследований особенностей адаптации полученных *in vitro* растений-регенерантов триплоидной осины (*Populus tremula* L.) с применением гидропонной установки. Триплоидные клоны осины характеризуются быстрым ростом, высоким качеством древесины и повышенной устойчивостью к болезням и вредителям по сравнению с диплоидными клонами и могут быть использованы для создания лесосырьевых плантаций. В целях сохранения ценного генофонда триплоидных форм осины целесообразно использовать клональное микроразмножение, при этом адаптация растений к условиям *ex vitro* – самый сложный процесс. Выращивание растений при помощи гидропонного метода имеет ряд преимуществ. При адаптации регенерантов триплоидной осины, у которых длина зеленой массы преобладает над корневой, наблюдались нормальное развитие без признаков инфицирования и хороший тургор зеленой массы при их извлечении из пробирки. Регенеранты триплоидной осины с декапитацией верхушечного побега имели соотношение длины зеленой массы к корневой, близкое к 1 : 1, при этом наблюдалось преобладание корней со значениями выше среднего. Из регенерантов осины с оставлением 2 междоузлий формировались растения с преобладанием корневой массы над зеленой, они имели в среднем 2 корня I порядка. Растения-регенеранты триплоидной осины с биометрическими показателями корней 5–7 см и зеленой массы до 5 см имели наиболее высокие показатели приживаемости (94.7–100 %). Постепенное снижение площади листовой поверхности способствует лучшей приживаемости регенерантов, при этом необходимо уменьшение уровня влажности со 100 % на начальном этапе адаптации до 60 % в течение 5 дней, далее – на 20 % через каждые 3 дня. Период адаптации растений триплоидной осины в гидропонной установке составляет 16 дней.

Ключевые слова: *Populus tremula* L., укоренение, гидропоника, клональное микроразмножение, *in vitro*, *ex vitro*.

DOI: 10.15372/SJFS20230304

ВВЕДЕНИЕ

Мировой опыт лесного хозяйства свидетельствует о широких возможностях промышленного выращивания быстрорастущих насаждений плантационного типа для перерабатывающей промышленности и топливно-энергетических целей в непосредственной близости от мест

переработки древесины. Плантационное лесовыращивание позволяет в 1.5–3 раза ускорить получение целевой древесины по сравнению с традиционным способом (Жигунов, 2008; Паничев, 2014; Крылов и др., 2015). К перспективным древесным породам – продуцентам сырья для плантационного выращивания в таежной зоне – относится осина (*Populus tremula* L.) –

наиболее распространенный и быстрорастущий вид тополя (Кузнецов, 2009; Багаев и др., 2014).

Плантационное выращивание осины с коротким циклом ротации возможно с использованием быстрорастущих триплоидных форм, отобранных в 1938 г. в Шарьинском районе Костромской области академиком ВАСХНИЛ А. С. Яблоковым (1941), а в 1962 г. – дополнительно сотрудником Костромской ЛОС ВНИИЛМ С. Н. Багаевым (1964). На базе данных клонов на площади более 130 га в 1989 г. был создан генетический резерват исполинской осины (Багаев, 2008). Особенность исполинских и других быстрорастущих клонов осины – их способность давать по два линейных прироста за вегетационный период, в результате чего в стволе откладывается значительное количество поздней древесины, содержащей больше механических тканей. Триплоидные (с тройным набором хромосом) формы осины отличаются от обычных (диплоидных) быстрым ростом, высоким качеством древесины и устойчивостью к вредителям и болезням, в том числе к стволовой гнили. В возрасте рубки 30 лет запас древесины достигает 400 м³/га (Яблоков, 1963; Стороженко и др., 1987; Багаев и др., 2013, 2014, 2021). Уникальные лесоводственные качества триплоидных клонов осины обуславливают сохранение и воспроизводство их ценного генофонда для дальнейшего плантационного выращивания, при этом целесообразно использовать современные технологии клонального микроразмножения растений *in vitro*, которые обеспечивают высокий коэффициент размножения, возможность круглогодичного проведения работ и ускоренного выпуска растений к заданному сроку, а также позволяют исключить угрозы их заражения вирусными и другими болезнями (Бутенко, 1999; Гарипов, 2014; Сельскохозяйственная биотехнология..., 2015; Калашникова, 2020).

Процесс адаптации растения к нестерильным условиям *ex vitro* – один из самых сложных при клональном микроразмножении. При этом эффективным методом адаптации может стать гидропонный метод, основными особенностями и преимуществами которого, по сравнению с традиционными, являются выращивание растений без почвы с применением искусственных субстратов различного происхождения; отсутствие патогенной микрофлоры и вредителей в почве; возможность управления ростом и развитием растений на протяжении всего вегетационного периода; использование малых площадей для непрерывного культивирования;

возможность применения готовых долговечных гидропонных систем, комплексных минеральных удобрений и многоспектральных светодиодных источников искусственного освещения с учетом биологических особенностей культуры; круглогодичное получение растительного сырья вне зависимости от сезона и климатических условий; тщательный контроль качества готовой продукции (Вахмистров, 2013; Maboko, Du Plooy, 2013; Texier, 2013; Шишкин, Антипова, 2017; Sharma et al., 2018; Макаров и др., 2020, 2021). Перспективность использования гидропонного метода при выращивании некоторых видов хвойных древесных пород отмечена многими исследователями (Руденко, 2002; Руденко, Шестак, 2006; Антонов и др., 2019; Селякова, Полянская, 2020).

В России проведен ряд исследований по клональному микроразмножению триплоидной осины и адаптации полученных растений-регенерантов *ex vitro* (Машкина, Исаков, 2007; Столярова, 2010; Зонтиков и др., 2016; Анохина и др., 2021; Багаев и др., 2021), а также получен положительный опыт использования посадочного материала *in vitro* для создания лесных плантаций (Жигунов и др., 2014; Машкина и др., 2019). Однако практически не изучено применение гидропоники для адаптации растительного материала осины.

Цель исследования – изучение особенностей адаптации полученных *in vitro* растений-регенерантов триплоидной осины с применением гидропонной установки.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования по адаптации растений проводили в 2021–2022 гг. в лаборатории клонального микроразмножения и экспериментальной гидропоники на базе Северного (Арктического) федерального университета им. М. В. Ломоносова. В качестве объектов исследования использовали растения-регенеранты триплоидной осины (клон 27), полученные ранее методом клонального микроразмножения (Багаев и др., 2021). Для проведения адаптации в многоярусной гидропонной установке (производитель – ООО «Биологические системы», Россия) выращенных растений-регенерантов триплоидной осины заложили три опыта для регенерантов, у которых длина зеленой массы преобладает над корневой; регенерантов с декапитацией верхушечного побега и с оставлением 2 междоузлий.

Несмотря на то что декапитация верхушечного побега (снятие апикального доминирования) инициирует развитие побегов из пазушных почек, что может впоследствии привести к многостольности растений, при высадке посадочного материала в условия открытого грунта проводится формирование саженца в один ствол. Такой посадочный материал будет пригоден для создания плантационных культур.

При адаптации растений-регенерантов триплоидной осины в гидропонных установках соблюдали световой режим (световой поток светодиодных ламп – 8000 лм, цветовая температура – 4000 К, PPФ – 165 мкмоль/(с · м²)), 16-часовой фотопериод, а также влажностный режим за счет системы туманообразования (уровень влажности 100 % на начальном этапе адаптации с постепенным снижением данного показателя). Растения укореняли на субстрате, состоящем из торфа нейтрального, вермикулита и перлита в соотношении 5 : 2 : 1 соответственно. Данная смесь компонентов в стаканчике не вымывается и не утрамбовывается. Такой состав позволяет делать реже режим подтопления питательным раствором, а за счет просыхания грунта стимулируется рост корней 2–3-го порядка. Полученным субстратом набивали кассету РКЛ-81. Режим кислотности (рН) питательного раствора – 5.6–5.9. В качестве питательного раствора для стимулирования структурного и вегетативного роста и укрепления корней использовали удобрение для гидропоники TriPart Flora Series

Grow (General Hydroponics Europe, Франция) из расчета 1.0 мл/л. Статистическую обработку экспериментальных данных и оценку достоверности результатов опытов проводили с использованием программы StatSoft Statistica 10.0.1011.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе проведенных исследований при адаптации растений-регенерантов триплоидной осины, у которых длина зеленой массы преобладает над корневой (опыт 1), при их извлечении из пробирки наблюдали нормальное развитие без признаков инфицирования и хороший тургор зеленой массы. Средняя длина надземной части составила 6.84 ± 2.08 см. Согласно значению асимметрии, распределение смещено в сторону значения больше среднего, коэффициент вариации в рамках нормы – 30 % (рис. 1).

Длина корневой системы составила в среднем 6.25 ± 1.54 см, коэффициент вариации – 25 %. Растения развиты непропорционально, наблюдается преобладание (в 2 раза больше) зеленой массы над корневой системой. В среднем регенерант имел 2 корня первого порядка.

Листовой аппарат развит нормально, в среднем растение имеет 10 листьев. При адаптации таких растений большое внимание уделяли постоянной подаче тонкодисперсионному потоку влаги.

При ослаблении интенсивности мелкодисперсного распыления воды у адаптируемых регенерантов триплоидной осины на 10-е сутки

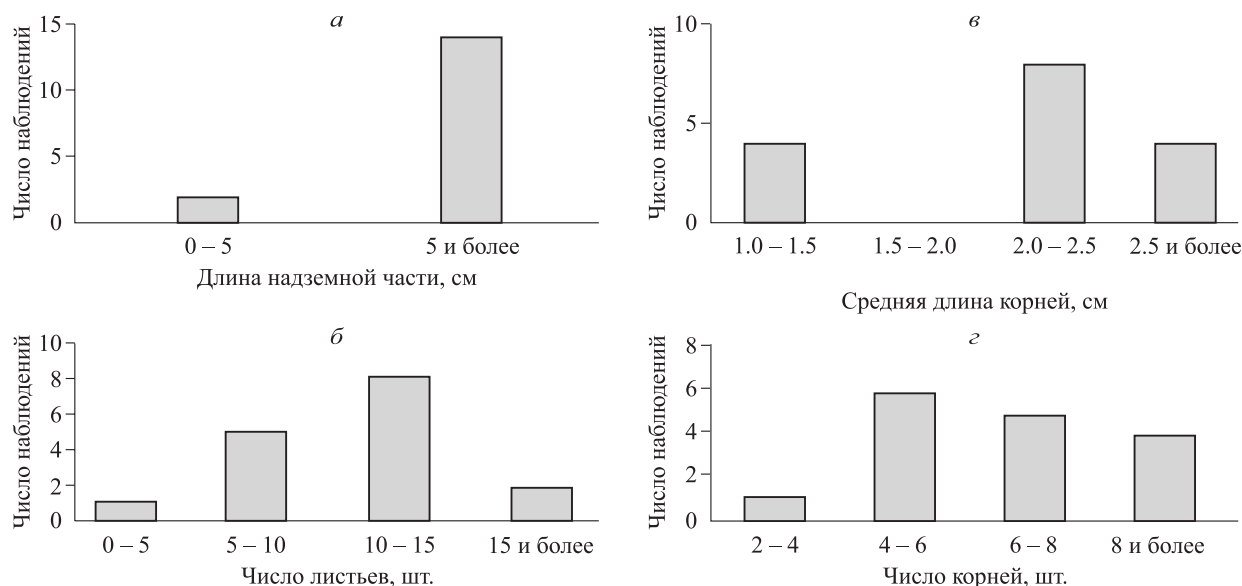


Рис. 1. Зависимость распределения выборки по параметрам адаптируемых растений-регенерантов триплоидной осины с преобладанием длины зеленой массы над корневой от числа наблюдений.

a – средняя длина побега, см; *б* – число листьев, шт.; *в* – средняя длина корней, см; *г* – число корней, шт.

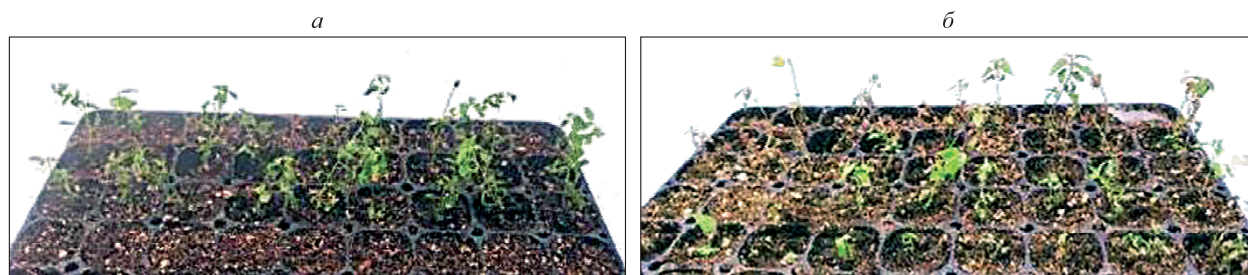


Рис. 2. Адаптируемые растения-регенеранты триплоидной осины с преобладанием длины зеленой массы над корневой в кассетах.

a – после пересадки; *б* – на 10-е сутки адаптации.

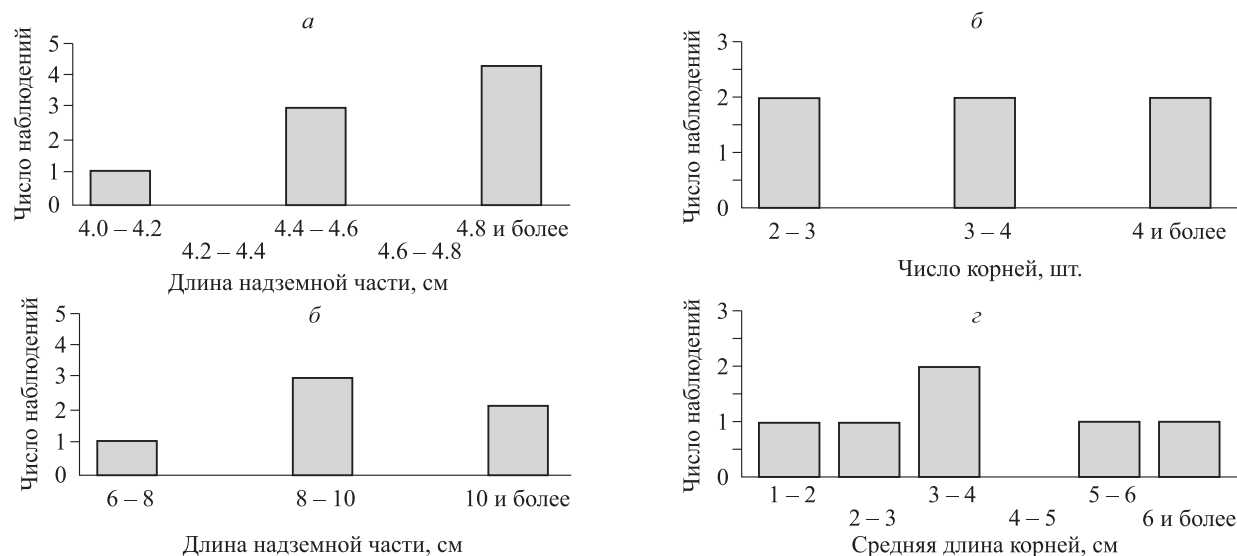


Рис. 3. Зависимость распределения выборки по параметрам адаптируемых растений-регенерантов триплоидной осины с декапитацией верхушечного побега от числа наблюдений.

a – средняя длина побега, см; *б* – число листьев, шт.; *в* – число корней, шт.; *г* – средняя длина корней, см.

адаптации отмечено снижение тургора с последующим увяданием верхушки. При этом полную гибель не наблюдали, однако растения находились в угнетенном состоянии (рис. 2).

На 16-е сутки приживаемость составила 94.7 %. В ходе исследований по адаптации регенерантов триплоидной осины с декапитацией верхушечного побега (опыт 2) извлеченные из пробирки регенеранты декапитировали с оставлением зеленого побега длиной 4–5 см, со средним числом листьев 9 шт. на каждом растении (рис. 3).

Отмечено соотношение длины зеленой массы к корневой, близкое к 1 : 1. Среднее число корней составило 3 шт. на растение, при этом преобладали корни со значениями выше среднего. Коэффициент вариации по всем значениям был не выше 35 %.

В течение 14 сут по мере снижения интенсивности тумана у адаптируемых растений триплоидной осины наблюдали потерю тургора.

У растений с большим числом листовых пластинок отмечено более сильное увядание, чем у растений с меньшим числом листовых пластинок, что связано со снижением транспирирующей поверхности. На 16-е сутки приживаемость составляла 100 %, а сохранность зеленой массы была выше, чем в опыте 1 (рис. 4).



Рис. 4. Адаптируемые растения-регенеранты триплоидной осины с декапитацией верхушечного побега в кассетах на 16-е сутки после пересадки.

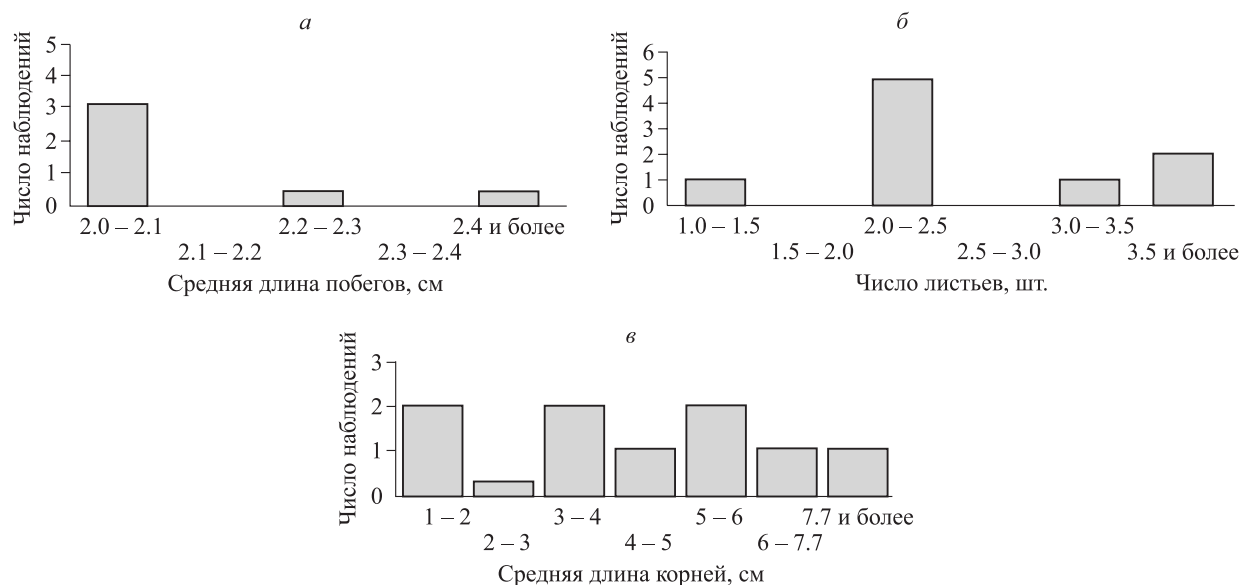


Рис. 5. Зависимость распределения выборки по параметрам адаптируемых растений-регенерантов триплоидной осины с оставлением 2 междоузлий от числа наблюдений.

а – средняя длина побега, см; *б* – число листьев, шт.; *в* – средняя длина корней, см.

При адаптации регенерантов осины с оставлением 2 междоузлий (опыт 3) формировались растения с преобладанием корневой массы над зеленой. В среднем для обеспечения растения фотосинтезом оставляли 2 листовые пластинки. Согласно полученным данным, растения имели в среднем 2 корня первого порядка, средний показатель максимальной длины корня составил 5.12 ± 2.24 см, при этом преобладали значения выше среднего (рис. 5). Это характеризуется тем, что очень много регенерантов осины имели 1 корень длиной 6–8 см, что подтверждает и коэффициент вариации (более 40 %).

Приживаемость растений триплоидной осины в опыте 3 составила 100 %, при этом у листьев сохранялся первоначальный вид, а также отмечено наличие зеленой пазушной почки, из которой формируется полноценное растение (рис. 6).

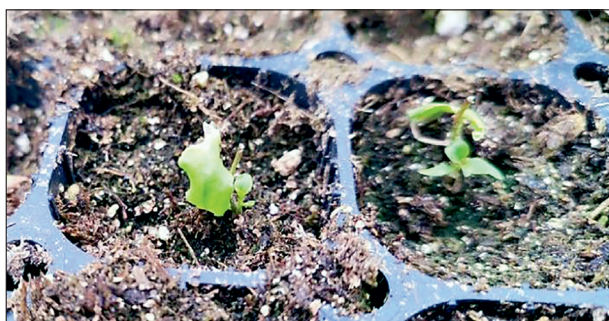


Рис. 6. Адаптируемые растения-регенеранты триплоидной осины с оставлением двух междоузлий.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных экспериментов по адаптации полученных методом *in vitro* растений триплоидной осины в гидропонной установке выявлено, что лучшую приживаемость имеют регенеранты с метрическими показателями корней 5–7 см, зеленой массы – до 5 см. Снижение площади листовой поверхности обеспечивает более успешную приживаемость регенерантов. На начальном этапе адаптации необходимо создание 100%-го уровня влажности с последующим его снижением в течение 5 дней до уровня 60 % и далее – по 20 % с интервалом в 3 дня. Продолжительность адаптации растений триплоидной осины в гидропонной установке составляет 16 дней. Использование гидропонного метода адаптации клонированных *in vitro* растений перспективно при выращивании триплоидных форм осины с целью дальнейшей закладки быстрорастущих лесосырьевых плантаций.

Работа выполнена при поддержке научно-образовательного центра мирового уровня «Российская Арктика: новые материалы, технологии и методы исследования» (тема «Технологии выращивания и адаптации посадочного материала лиственных пород Европейского Севера», рег. № 122120500078-8), а также в рамках государственного задания Федерального агентства лесного хозяйства РФ по пла-

новой теме «Разработка научно-обоснованных технологий закладки короткооборотных лесосырьевых плантаций осины с использованием быстрорастиющих форм» (Приказ Рослесхоза от 23.12.2021 № 975).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Анохина Н. С., Коновалов В. Ф., Ханова Э. Р. Микрклональное размножение карельской березы и триплоидной осины *in vitro* // Экобиотех. 2021. Т. 4. № 2. С. 101–106.
- Антонов А. М., Александрова Ю. В., Пастухова Н. О., Лютикова А. И. Сравнительный анализ эффективности корнеобразования черенков в аэропных и гидропных системах // Вестн. КрасГАУ. 2019. № 2. С. 62–69.
- Багаев Е. С. Генетический резерват осины исполинской в Костромской области // Лесхоз. информ. 2008. № 10–11. С. 36–38.
- Багаев Е. С., Коренев И. А., Багаев С. С., Зонтиков Д. Н. Особенности формирования быстрорастиющих клонов в генетическом резервате исполинской осины // Лесн. хоз-во. 2013. № 2. С. 26–28.
- Багаев Е. С., Макаров С. С., Багаев С. С., Родин С. А. Исполинская осина: биологические особенности и перспективы плантационного выращивания. Пушкино: ВНИИЛМ, 2021. 72 с.
- Багаев Е. С., Рыжова Н. В., Шутков В. В. Ведение хозяйства в осиновых лесах Костромской области. Кострома: КГТУ, 2014. 138 с.
- Багаев С. Н. Отбор ценных форм осины и березы в Костромской области. М.: Проспект ВДНХ СССР, 1964. 4 с.
- Бутенко Р. Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе. М.: ФБК-Пресс, 1999. 160 с.
- Вахмистров Д. Б. Растения без почвы. М.: Рипол Классик, 2013. 118 с.
- Гаринов Н. Р. Отбор и выращивание триплоидной осины (*Populus tremula* L.) с применением методов молекулярной генетики и биотехнологии в Республике Татарстан: дис. ... канд. с.-х. наук: 06.03.01. М.: ВНИИЛМ, 2014. 128 с.
- Жигунов А. В. Приоритетные направления лесного селекционного семеноводства и плантационного лесовыращивания на Северо-Западе России // Лесхоз. информ. 2008. № 3–4. С. 11–15.
- Жигунов А. В., Шабунин Д. А., Бутенко О. Ю. Лесные плантации триплоидной осины, созданные посадочным материалом *in vitro* // Вестн. Поволж. гос. технол. ун-та. Сер.: Лес. экол. Природопольз. 2014. № 4 (24). С. 21–30.
- Зонтиков Д. Н., Зонтикова С. А., Сергеев Р. В. Размножение высокопродуктивных диплоидных и триплоидных форм осины (*Populus tremula* L.) в культуре *in vitro* // Агрохимия. 2016. № 7. С. 59–65.
- Калашикова Е. А. Клеточная инженерия растений: учеб. и практ. для вузов. М.: Юрайт, 2020. 333 с.
- Крылов В., Ковалева О., Смирнов А. Промышленные лесосырьевые плантации как новый лесной бизнес // Лес-ПромИнформ. 2015. № 3 (109). С. 44–46.
- Кузнецов А. Осина как ценное древесное сырье // Лес-ПромИнформ. 2009. № 8 (66). С. 94–98.
- Макаров П. Н., Макарова Т. А., Самойленко З. А., Гулакова Н. М. Технология выращивания эфиромасличных культур в закрытых системах // Вестн. Нижегород. гос. ун-та. 2020. № 2. С. 53–59.
- Макаров П. Н., Макарова Т. А., Самойленко З. А., Гулакова Н. М. Элементы агротехники зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum*) в условиях светокультуры // Вестн. Алтай. гос. агр. ун-та. 2021. № 10 (204). С. 44–50.
- Машина О. С., Исаков Ю. Н. Микрклональное размножение хозяйственно ценных генотипов осины // Сохранение, изучение и воспроизводство генетических ресурсов лесных древесных растений: сб. науч. тр. Воронеж: НИИЛГиС, 2007. С. 47–58.
- Машина О. С., Шабанова Е. А., Вариводина И. Н., Гродецкая Т. А. Полевые испытания размноженных *in vitro* клонов осины (*Populus tremula* L.): рост, продуктивность, качество древесины, генетическая стабильность // ИВУЗ. Лесн. журн. 2019. № 6 (372). С. 25–38.
- Паничев Г. П. Плантационное выращивание лесных ресурсов // Лесн. вестн. Сер.: Экономика. 2014. № 3. С. 43–46.
- Руденко О. А. Черенкование хвойных видов семейства Cupressaceae на гидропонике: дис. ... канд. с.-х. наук: 06.03.01. Красноярск: СибГТУ, 2002. 179 с.
- Руденко О. А., Шестак К. В. Черенкование интродуцентов на гидропонике // Хвойные бореал. зоны. 2006. Т. 23. № 2. С. 214–217.
- Сельскохозяйственная биотехнология и биоинженерия: учебник. 4-е изд., перераб. и доп. / под ред. акад. РАН В. С. Шевелухи. М.: URSS, 2015. 704 с.
- Селякова В. А., Полянская И. С. Выращивание саженцев сосны в гидропонике // Актуальные вопросы и перспективы развития науки и образования: Материалы Междунар. (заочн.) науч.-практ. конф. Нефтекамск: Мир науки, 2020. С. 40–43.
- Столярова Н. А. Выращивание посадочного материала триплоидной осины, полученного по технологии *in vitro*, и закладка плантаций // Изв. СПбЛТА. 2010. Вып. 193. С. 62–71.
- Стороженко В. Г., Михайлов Л. Е., Багаев С. Н. Ведение хозяйства в осинниках. М.: Агропромиздат, 1987. 145 с.
- Шишкин П. В., Антипова О. В. Бессубстратная технология гидропного выращивания // Овощи России. 2017. № 3 (36). С. 56–61.
- Яблоков А. С. Исполинская форма осины в лесах СССР // Тр. ВНИИЛХ. М.: ВНИИЛХ, 1941. Вып. 23. С. 1–52.
- Яблоков А. С. Воспитание и разведение здоровой осины. М.: Гослесбумиздат, 1963. 441 с.
- Maboko M. M., Du Plooy C. P. High-plant density planting of basil (*Ocimum basilicum*) during summer/fall growth season improves yield in a closed hydroponic system // Acta Agr. Scand., Sect. B – Soil & Plant Sci. 2013. V. 63. Iss. 8. P. 748–752.
- Sharma N., Acharya S., Kumar K., Singh N., Chaurasia O. P. Hydroponics as an advanced technique for vegetable production: an overview // J. Soil Water Conserv. 2018. V. 17. Iss. 4. P. 364–371.
- Texier W. Hydroponics for everybody. All about home horticulture. Paris, France: Mama Publ., 2013. 328 p.

ADAPTATION OF TRIPLOID ASPEN TO *ex vitro* CONDITIONS USING A HYDROPONIC SYSTEM

S. S. Makarov^{1,2}, A. M. Antonov², Yu. V. Alexandrova², O. P. Lebedeva², I. B. Kuznetsova³

¹ Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy
Timiryazevskaya, 49, Moscow, 127434 Russian Federation

² Northern (Arctic) Federal University named after M. V. Lomonosov
Naberezhnaya Severnoy Dviny, 17, Arkhangelsk, 163002 Russian Federation

³ Kostroma State Agricultural Academy
Uchebny Gorodok, Karavaevskaya s/a, 34, Karavaevo, Kostroma District, Kostroma Oblast, 156530 Russian Federation

E-mail: makarov_serg44@mail.ru, a.antonov@narfu.ru, yu.aleksandrova@narfu.ru, o.lebedeva@narfu.ru, sonnereiser@yandex.ru

The results of the studies of the features of adaptation of triploid aspen regenerants obtained *in vitro* using a hydroponic system are discussed in the article. Triploid clones of aspen (*Populus tremula* L.) are characterized by rapid growth, high wood quality and increased resistance to diseases and pests compared to diploid clones and can be used to create forest plantations. Use of clonal micropropagation is advisable to preserve the valuable gene pool of triploid forms of aspen, while the adaptation of plants to *ex vitro* conditions is the most difficult process. Growing plants using the hydroponic method has several advantages. Triploid aspen regenerants, in which the length of the green mass prevails over the root mass, have a normal development without signs of infection and a good turgor of the green mass when they are removed from the test tube during the adaptation. Triploid aspen regenerants with decapitation of the apical shoot have the ratio of the lengths of the green mass to the root mass is close to 1:1, while the predominance of roots with values above the average is observed. Aspen plants with a predominance of root mass over green are formed from regenerants with leaving of 2 internodes and have an average of 2 roots of the first order. Triploid aspen plants-regenerants with biometric parameters of roots 5–7 cm and green mass up to 5 cm had the highest survival rates (94.7–100 %). A gradual decrease in the leaf surface area contributes to a better survival of regenerants, while it is necessary to reduce the humidity level from 100 % at the initial stage of adaptation to 60 % within 5 days, then – on 20 % with an interval of 3 days. The period of adaptation of triploid aspen plants in a hydroponic system is 16 days.

Keywords: *Populus tremula* L., rooting, hydroponics, clonal micropropagation, *in vitro*, *ex vitro*.

How to cite: Makarov S. S., Antonov A. M., Alexandrova Yu. V., Lebedeva O. P., Kuznetsova I. B. Adaptation of triploid aspen to *ex vitro* conditions using a hydroponic system // *Sibirskij Lesnoj Zhurnal* (Sib. J. For. Sci.). 2023. N. 3. P. 27–33 (in Russian with English abstract and references).