

УДК 630*232.414.4

М. А. Иванова, аспирант (ГНУ «Институт леса НАН Беларуси»);
И. М. Баландина, науч. сотрудник (ГНУ «Институт леса НАН Беларуси»);
Е. Н. Химченко, техник (ГНУ «Институт леса НАН Беларуси»)

ВЛИЯНИЕ БЕСХЛОРОНОГО УДОБРЕНИЯ НА РОСТ РЕГЕНЕРАНТОВ ОСИНЫ В УСЛОВИЯХ *EX VITRO*

Для закладки целевых плантаций на больших площадях требуется значительное количество посадочного материала. Массовое производство микроклонально размноженного посадочного материала является оптимальным вариантом решения этой проблемы. При переносе регенерантов в нестерильные условия *ex vitro* растения испытывают стресс и погибают. Целью данной работы стало выяснение влияния бесхлорного удобрения на рост и сохранность регенерантов осины при выращивании в условиях *ex vitro*. Выяснено, что применение удобрений концентрацией 1 г/л достоверно улучшает морфологическое развитие регенерантов осины по сравнению с применением удобрений рекомендуемой концентрации 2 г/л.

For a making of a target plantations on the big areas the significant amount of a planting material is required. Mass production of micropropagating planting material is an optimum variant of the decision of this problem. At carrying over regenerants in unsterile conditions *ex vitro* plants have stress and perish. Influence finding-out chlorine-free fertilizers on growth and safety of regenerants of aspens at cultivation in conditions *ex vitro* became the purpose of the given work. It is found out that application of fertilizers by concentration 1 g/l authentically improves morphological development of regenerants of aspens, than application of fertilizers of recommended concentration 2 g/l.

Введение. Для закладки целевых плантаций на больших площадях требуется значительное количество посадочного материала. Массовое производство микроклонально размноженного посадочного материала является оптимальным вариантом решения этой проблемы. При переносе растений из стерильных условий выращивания (*in vitro*) в нестерильные почвенные условия (*ex vitro*) может происходить значительный отпад растений, поэтому оптимизация условий выращивания микроклонально размноженного посадочного материала является актуальной проблемой.

Белорусскими и зарубежными исследователями поднимался вопрос адаптации плодовых деревьев на различных субстратах [1, 2], исследованы возможности ризогенеза в условиях *ex vitro* [3]. Исследования показали, что немаловажными факторами при посадке регенерантов в условия *ex vitro* являются качество субстратов, сроки высадки, способ перенесения растений из пробирок, высота регенерантов, длина корня и др.

Одним из важнейших факторов при размножении растений является ризосфера. В настоящее время современные питомники используют для укоренения контейнеры, горшки или кассеты, наполненные субстратом. Это позволяет лучше контролировать почвенные условия и параметры воздушной среды, оптимизировать образование и рост корней у регенерантов. В теплицах используется несколько типов субстратов (органических и неорганических), которые могут применяться в чистом виде или в смеси с другими. Субстрат, который можно считать наиболее универсальным, гарантирующим успешность

культивирования и высокое качество посадочного материала (хорошее развитие корневой системы и надземной части растений), выделить трудно. При приобретении субстрата обычно учитываются стоимость, доступность и однородность. Наиболее часто применяемые субстраты – торф, перлит, вермикулит, минеральная вата и различные смеси из данных компонентов. Для питомников самым легкодоступным и дешевым субстратом является субстрат на основе верхового или низинного торфа.

Низинный торф залегают на болотах, расположенных у подножия склонов и в поймах рек. Таким образом, низинный торф не только самый зольный и богатый, но и наименее кислый (рН в пределах 6–7). В нем содержатся в достаточном для большинства культурных растений количестве все питательные вещества.

Верховой торф кислый, его рН = 3–4. Фосфора в верховом торфе мало – менее 0,1%, в низинном значительно больше – до 1% и более. Азота в верховом торфе около 1%, в низинном – 2,5–3%, иногда до 4%. Калия во всех торфах мало – 0,05–0,15%.

Однако необходимо отметить разный механический состав торфов: низинный торф состоит из мелких частиц, слеживается, образует комки, использование его нецелесообразно ввиду его быстрого уплотнения из-за низкой пористости и пылевой структуры. Кроме того, низинный торф заселен многочисленными видами семян сорной растительности [4]. А верховой образуется из растительности олиготрофного типа, в ботаническом составе которого не более 10% остатков растительности

эвтрофного типа: сфагновых мхов, пушицы, багульников [5].

Исходя из ранее проведенных нами исследований мы отметили, что сохранность и рост микроклональных растений выше, если использовать субстрат на основе верхового торфа, однако применение верхового торфа целесообразно, если применять корневую или внекорневую подкормку растений, так как он является более бедным, чем низинный. Поэтому для улучшения питания растений мы исследовали влияние внекорневой подкормки на растения, выращенные на субстрате на основе верхового торфа.

Целью наших исследований стало выяснение влияния бесхлорного удобрения на рост и сохранность регенерантов осины при выращивании в условиях *ex vitro*.

Основная часть. Исследования проводились в лаборатории генетики и биотехнологии Института леса НАН Беларуси. Объект исследования – микроклональные растения осины *Populus tremula* (L.). Источником экспланта клона является дерево осины, которое относится к исполинской форме осины, отличается быстрым ростом и устойчивостью против сердцевинной гнили. Высота регенерантов при посадке составила 2–5 см. Длина корня регенерантов – 1 см.

In vitro размноженные растения укоренялись на стандартной среде WPM, освещение – 2,5–3 тыс. лк, температура – 25°C.

Для адаптации в нестерильных условиях использовался следующий субстрат: смесь верхового торфа с песком в соотношении 3 : 1, неавтоклавированная. Состав водной вытяжки приготовленного субстрата представлен в табл. 1.

Для исследования мы использовали раствор комплексного бесхлорного удобрения белорусского производства: анализировалось влияние удобрений рекомендуемой концентрации (для декоративных растений и газонов) 2 г/л и концентрации 1 г/л. Контрольная группа растений выращивалась без подкормки.

Состав применяемого бесхлорного быстрорастворимого удобрения: К (20%), N (18%), P (5 %), Mg (5%), Cu (0,01%) Mn (0,042%), Zn (0,014%), Mo (0,004%), B (0,02%). Производитель УП «Белреахим», г. Минск.

Адаптация регенерантов проходит в четыре основных этапа.

Первый этап адаптации – растения после ризогенеза *in vitro* высаживают в кассеты объемом 100 мл, заполненные субстратом. Кассеты устанавливают в установку с климат-контролем (поддерживаемая влажность 80–90%). Длительность этапа – 4 недели. Условия первого этапа адаптации: освещенность – 4–5 тыс. лк, температура – 21–23°C, фотопериод – 16/8 часов.

Второй этап адаптации – кассеты с растениями переставляют в установку с климат-контролем, где поддерживается влажность 50–60%. Длительность этапа – 1 месяц. Условия второго этапа адаптации: освещенность – 4–5 тыс. лк, температура – 21–23°C, фотопериод – 16/8 часов.

Третий этап адаптации – растения переставляют из установки с климат-контролем в отапливаемое помещение. Условия третьего этапа адаптации: освещенность – 4–5 тыс. лк, температура – 21–23°C, фотопериод – 16/8 часов, влажность – 30%.

Четвертый этап адаптации – растения высаживаются в отдельные контейнеры объемом 0,5 л в условия закрытого грунта (теплица Корневской экспериментальной лесной базы Института леса НАН Беларуси).

Наши исследования проводились на первом и втором этапах адаптации.

Морфологическое развитие растений учитывали по показателям высоты стволика (см) от корневой шейки до последней развитой почки, также определяли прирост (см) и сохранность. Статистическую обработку данных проводили, используя программы Microsoft Excel и Statistica 6.0.

Проведенное исследование показало, что в зависимости от концентрации применяемого удобрения сохранность растений варьирует от 94 до 100%. Так, стопроцентная сохранность в конце десяти недель адаптации в лабораторных условиях наблюдалась у растений, которые подкармливали удобрениями в концентрации 1 г/л. В то же время растения, подкармливаемые удобрениями концентрацией 2 г/л, и контрольные растения показали одинаковую сохранность к концу десяти недель адаптации – 94,4% (рис. 1).

Таблица 1

Состав водной вытяжки субстрата для адаптации

pH _{KCl}	H _г , %	N _{общ} , %	P _{общ} , %	P ₂ O ₅ , мг/100 г	Гумус (почва), % С (торф), %	N _{легк} , мг/100 г	Ca + Mg, мг-экв/100 г	Ca, мг-экв/100 г	Mg, мг-экв/100 г
2,8	86,70	0,59	0,034	0,046	2,07	13,22	25,42	27,02	5,600

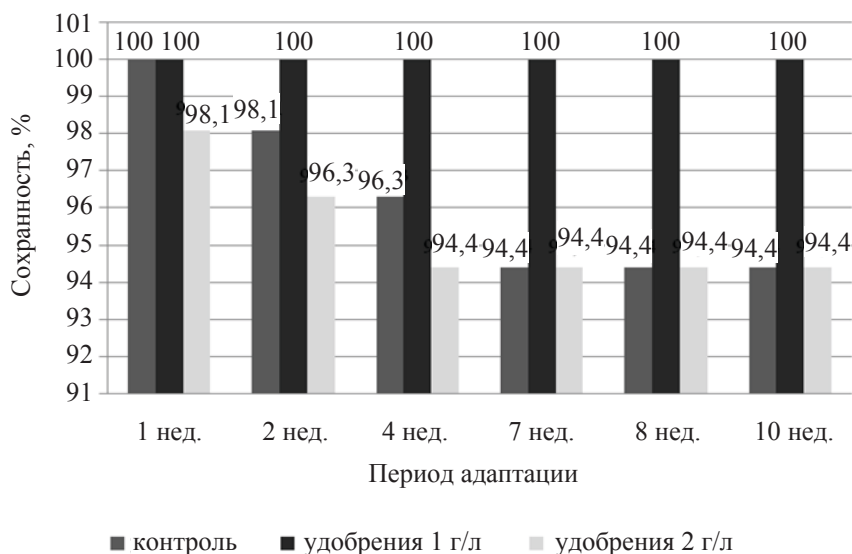


Рис. 1. Сохранность регенерантов осины в зависимости от подкормки удобрением разной концентрации в разные периоды адаптации *ex vitro*

При подкормке удобрениями концентрации 2 г/л приживаемость регенерантов в первую неделю адаптации составила 98,1%, приживаемость контрольных и опытных с подкормкой удобрениями концентрацией 1 г/л составила 100%. Вероятно, данный факт связан с негативным влиянием минеральной подкормки на ранних стадиях выращивания регенерантов.

При оценке высоты стволика в течение десяти недель адаптации по ANOVA обнаружена статистически значимая разница между контрольными растениями и растениями с удобрением концентрацией 1 г/л ($p << 0,05$), в то же время разница между контрольными растения-

ми и растениями с удобрением концентрацией 2 г/л недостоверно значима (рис. 2).

Так, к концу десяти недель адаптации средняя высота стволика регенерантов, которые подкармливали удобрениями концентрацией 1 г/л, составила $9,1 \pm 0,30$ см, с концентрацией 2 г/л – $7,1 \pm 0,27$ см, контрольных растений – $7,2 \pm 0,31$ см.

В то же время при анализе динамики прироста (рис. 3) заметно, что подкормка удобрениями влияет на динамику прироста у растений вне зависимости от концентрации. У регенерантов с подкормкой удобрениями концентрацией 1 г/л максимальный прирост наблюдался на восьмой неделе адаптации и составил 1,5 см.

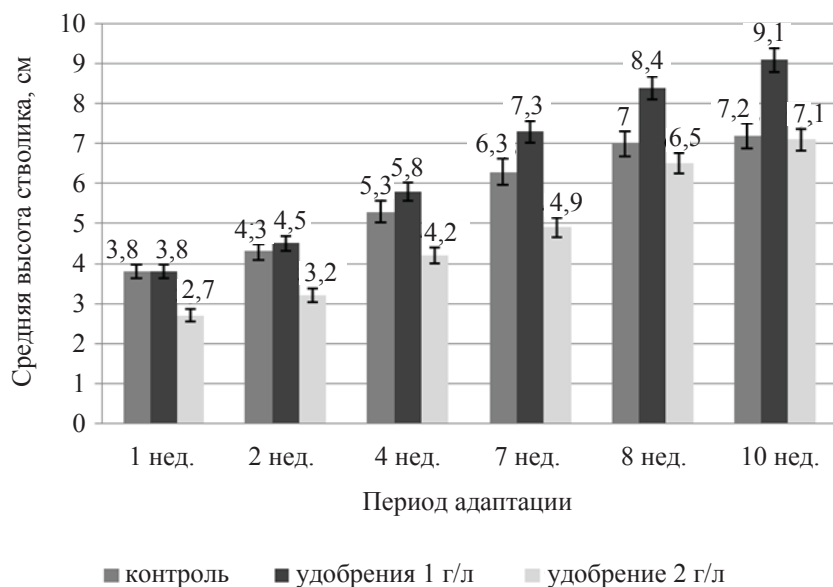


Рис. 2. Высота стволика регенерантов осины в зависимости от подкормки удобрением разной концентрации в разные периоды адаптации *ex vitro*

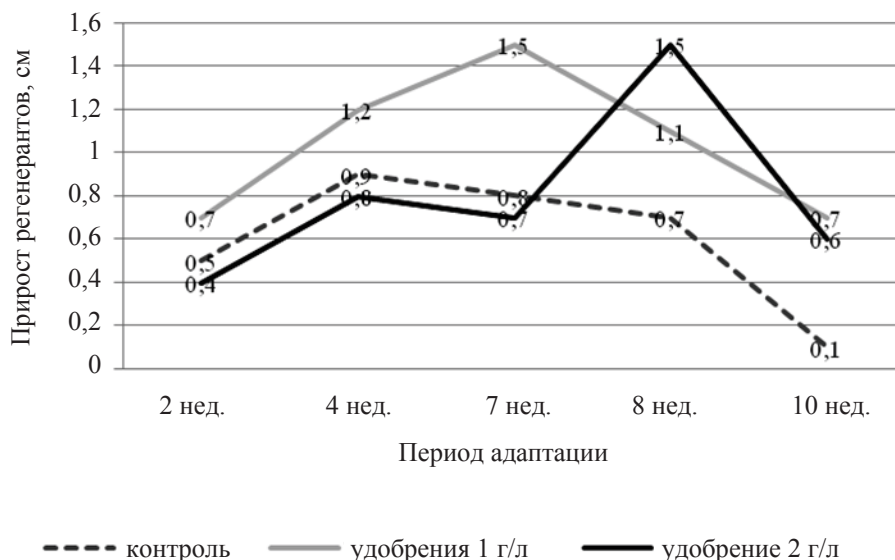


Рис. 3. Динамика прироста регенерантов осины в зависимости от подкормки удобрением разной концентрации в разные периоды адаптации

Такой же прирост, но на седьмой неделе адаптации, прослеживался у растений, подкармливаемых удобрениями концентрацией 2 г/л.

У растений контрольной группы на протяжении всего периода адаптации наблюдается плавная динамика прироста, максимальной точкой которой является всего 0,9 см на четвертой неделе адаптации. На графике можно отметить, что со второй по четвертую недели адаптации прирост возрастает, причем еще до восьмой недели прирост сохраняет свою динамику. К десятой неделе адаптации прирост во всех вариантах опыта снизился у контрольных до 0,1 см, у подкармливаемых растений – до 0,6–0,7 см.

За десять недель адаптации прирост стволика в высоту составил у контрольных растений около 3 см, у опытных растений с подкормкой удобрениями концентрацией 1 г/л – больше 5 см, а с подкормкой удобрениями концентрацией 2 г/л – чуть больше 4 см.

Вполне возможно, что для лесных растений, приспособившихся в процессе эволюции к более бедным почвам и низкому содержанию микроэлементов в них, концентрация удобрений в 1 г/л (ниже рекомендуемой в 2 г/л) оказывает большее влияние.

Результаты данного исследования будут положены в основу технологии выращивания микроклонально выращенного посадочного материала осины.

Заключение. В результате проведенных исследований можно сделать следующие выводы:

1) при выращивании регенерантов осины в условиях *ex vitro* на субстрате с верховым торфом следует подкармливать их комплексными удобрениями с микроэлементами, так как это повышает прирост регенерантов осины;

2) при концентрации удобрений 1 г/л морфологическое развитие регенерантов осины достоверно выше, чем при концентрации 2 г/л.

Литература

1. Красинская, Т. А. Влияние ионообменного субстрата БИОНА-112 на биохимические показатели физиологического развития растений подвоев рода *Cerasus* Mill. при адаптации *ex vitro* / Т. А. Красинская, С. Л. Липская // Плодоводство: сб. науч. ст. / Ин-т плодоводства. – Самохваловичи, 2006. – Т. 18. Ч. 1. – С. 37–43.
2. Адаптация регенерантов *ex vitro* / Н. В. Кухарчик [и др.] // Плодоводство: сб. науч. ст. / Ин-т плодоводства. – Самохваловичи, 2006. – Т. 18. Ч. 2. – С. 174–181.
3. Красинская, Т. А. Укоренение *in vitro* и *ex vitro* подвоя вишни и черешни / Т. А. Красинская // Наука и инновации. – 2008. – № 6 (64). – С. 42–45.
4. Субстраты на основе органических отходов для выращивания семян в контейнерах / Е. М. Романов [и др.] // Лесное хозяйство. – 2009. – № 2. – С. 35–37.
5. Кузнецова, Л. М. Изменение физико-химических свойств торфяного тепличного грунта в процессе его использования / Л. М. Кузнецова, Л. Н. Яковлева // Труды ВНИИТЛ. – Л., 1983. – Вып. 51. – С. 68–73.

Поступила 14.04.2010