

УДК 630*232.414.4

М. А. Иванова, аспирант (ГНУ «Институт леса НАН Беларусь»);
Л. А. Богинская, мл. науч. сотрудник (ГНУ «Институт леса НАН Беларусь»);
И. М. Баландина, науч. сотрудник (ГНУ «Институт леса НАН Беларусь»);
Е. Н. Химченко, техник (ГНУ «Институт леса НАН Беларусь»);
Н. В. Осипенко, техник (ГНУ «Институт леса НАН Беларусь»)

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ МИКРОКЛОНАЛЬНО РАЗМНОЖЕННЫХ РАСТЕНИЙ ОСИНЫ И БЕРЕЗЫ ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ В УСЛОВИЯХ ЗАКРЫТОГО ГРУНТА

Закладка целевых плантаций на больших площадях требует значительного количества посадочного материала. Одним из вариантов решения этой проблемы является массовое производство посадочного материала, выращенного методом микроклонального размножения. На стадии пересадки растений в нестерильные условия *ex vitro* регенеранты испытывают стресс и погибают. Целью данного исследования стало изучение морфометрических параметров микроклональных растений осины и березы при выращивании в условиях закрытого грунта. Обнаружено, что при отборе клонов следует учитывать географическое место произрастания материнского дерева, а также то, что клон с наиболее развитой надземной частью будет превосходить по росту остальные клоны на протяжении всего периода адаптации.

The making of a target plantations on the big areas demands a significant amount of a planting material. One of variants of the decision of this problem is mass production of the planting material which has been grown up by a method of micropropagation. At a stage of change of plants in unsterile conditions *ex vitro* regenerants have stress and perish. Studying morphometric parametres of regenerants of aspen and birch at cultivation in the conditions of the closed ground became an objective of this research. It is revealed that at selection of clones it is necessary to consider a geographical place of growth of a parent tree, and also a clone with the most developed elevated part, will surpass in growth other clones throughout all period of adaptation.

Введение. Закладка целевых плантаций на больших площадях требует значительного количества посадочного материала. Одним из вариантов решения этой проблемы является массовое производство посадочного материала, выращенного методом микроклонального размножения.

Исследователи выделяют несколько этапов прохождения процесса микроклонального размножения: 1) введение экспланта в культуру (инициация); 2) собственно микrorазмножение – на этом этапе происходит образование побегов и увеличение их числа (пролиферация); 3) укоренение размноженных побегов и их хранение (ризогенез); 4) стадия высадки растений в почву – этап адаптации *ex vitro* [2, 3]. На этапе адаптации происходит значительный отпад растений (регенерантов), поэтому оптимизация условий данного этапа является актуальной проблемой.

Различные исследователи показали, что важными факторами при посадке регенерантов в условия *ex vitro* являются сроки высадки, качество субстратов, способ перенесения растений из пробирок, высота регенерантов, длина корня и др.

Целью наших исследований стало изучение морфометрических параметров микроклональных растений осины и клона березы при выращивании в условиях закрытого грунта.

Основная часть. Исследования проводились в теплице Кореневской экспериментальной лесной базы Института леса НАН Беларусь. Объекты исследования: микроклональные растения осины *Populus tremula* (L.) – 3 клона Pt, V22 и 215, и

один клон березы повислой, или бородавчатой, *Betula pendula* (Roth.). Для получения всесторонней информации о росте и формировании растений этих клонов необходимо определение значений морфометрических показателей на различных этапах выращивания растений. Для проведения исследований было взято по 100 растений.

Клон Pt: источником экспланта послужило дерево, которое отличается быстрым ростом и устойчивостью против сердцевинной гнили, место произрастания – Ленинградская область (Россия).

Клон 215: источником экспланта – дерево, которое относится к исполинской форме, отличается быстрым ростом и устойчивостью против сердцевинной гнили, место произрастания – Кировская область (Россия).

Клон V22: источником экспланта является дерево, которое относится к зеленокорой форме осины, отличается быстрым ростом и устойчивостью против сердцевинной гнили, место произрастания – Минская область (Беларусь).

Источником экспланта клона березы является дерево, которое относится к ромбовидно-трещиноватой форме. Отобран в городских посадках г. Гомеля, как быстрорастущая и устойчивая форма. Клон бб31 (31) отличается очень сильным ростом в культуре и в почве.

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

Таблица 1

Состав водной вытяжки субстрата для адаптации

pH _{KCl}	H _r , %	N _{общ} , %	P _{общ} , %	P _{2O₅} , мг/100 г	Гумус (почва), % C (торф), %	N _{легк} , мг/100 г	Ca + Mg, мг-экв/100 г	Ca, мг-экв/100 г	Mg, мг-экв/100 г
6,1	86,70	0,917	0,035	11,66	40,92	54,53	2,76	2,27	0,49

Адаптация регенерантов проходит в четыре условных 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 – 2–23°C, фотопериод – 16/8 часов, влажность – 30%.

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.

Наши исследования проводились на четвертом этапе адаптации.

Морфологическое развитие растений учитывали по показателям высоты стволика (см) от корневой шейки до последней развитой

почки, количеству листьев, и спустя 2 месяца замеряли диаметр корневой шейки штангенциркулем. Статистическую обработку данных проводили, используя программы Microsoft Excel и Statistica 6.0.

Проведенное исследование показало, что самый высокий процент сохранности (89%) к концу пяти месяцев адаптации в условиях теплицы наблюдается у клона осины 215, у клона Pt – 73%, а у клона V22 – 63% (рис. 1). Однако здесь можно отметить динамику отпада – если самый большой процент отпада у всех клонов приходится на период один-два месяца, то есть сразу после пересадки в теплицу, то в дальнейшем ситуация иная. У клонов V22 и 215 спустя два месяца сохранность остается на одном уровне, а у клона Pt в течение всего периода адаптации происходит постепенный отпад.

Что касается березы, то сохранность ко второму месяцу адаптации в теплице составила 97% и оставалась такой же на протяжении всего периода выращивания. По морфологическому развитию клон V22 превосходит все остальные клонсы, так как к пятому месяцу его средняя высота стволика составляла $54,0 \pm 4,74$ см, когда у клона Pt – $(23,7 \pm 2,78)$ см, а у клона 215 – $(24,9 \pm 1,21)$ см (табл. 2). У регенерантов березы высота стволика к пятому месяцу адаптации в условиях теплицы составила $14,8 \pm 0,34$ см.

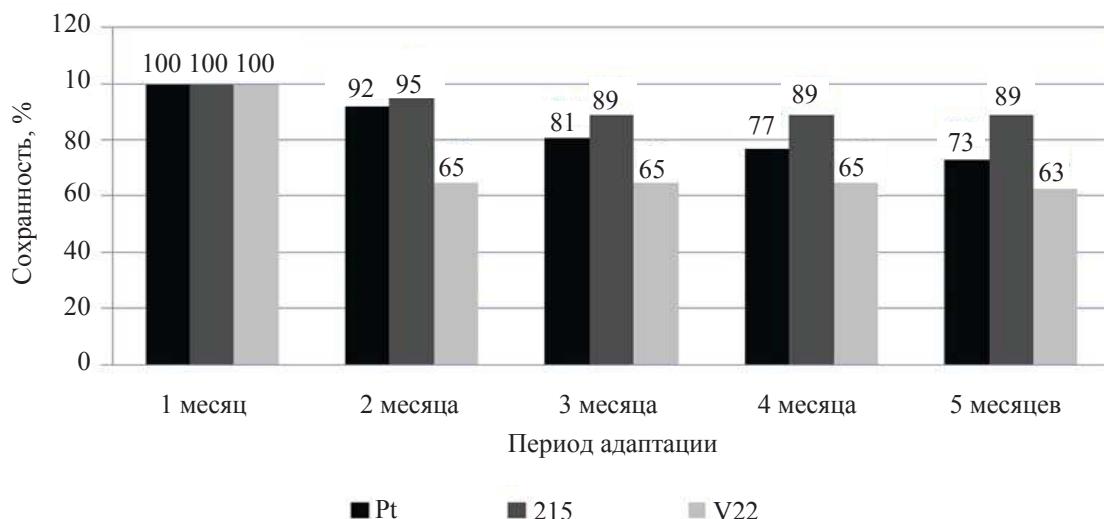


Рис. 1. Сохранность регенерантов трех клонов осины в разные периоды адаптации в условиях закрытого грунта

Таблица 2.

**Средняя высота стволика микроклональных растений осины
и березы в разные периоды адаптации в условиях закрытого грунта**

Клон	Средняя высота стволика регенерантов, см				
	1 месяц	2 месяца	3 месяца	4 месяца	5 месяцев
Pt	5,7 ± 0,16	5,8 ± 0,16	16,9 ± 1,84	23,6 ± 2,67	23,7 ± 2,78
215	5,0 ± 0,10	5,2 ± 0,11	19,1 ± 0,92	24,4 ± 1,23	24,9 ± 1,21
V22	7,4 ± 0,21	8,5 ± 0,27	23,3 ± 1,77	53,8 ± 4,55	54,0 ± 4,74
Береза	5,6 ± 0,11	6,1 ± 0,11	13,8 ± 0,32	14,8 ± 0,34	14,8 ± 0,34

Если рассмотреть изменение динамики прироста разных клонов (рис. 2), то можно отметить, что клон V22 по динамике роста значительно отличается от двух других клонов. Если в июле (третий месяц на рис. 2) прирост стебля в длину у всех клонов был примерно одинаковым и составил 12–15 см, то в августе – сентябре (четвертый месяц на рис. 2) прирост растений осины Pt и 215 снизился до 5,5 см в среднем. Можно предположить, что это связано с подготовкой растений к зимнему периоду, вследствие чего к концу сентября (пятый месяц на рис. 2) рост растений этих клонов прекратился. В то же время, интенсивность роста растений клона V22 в августе (четвертый месяц на рисунке 2) резко увеличилась, и прирост составил в среднем 29,6 см. Рост растений замедлился только в конце сентября, когда у них, как ранее у саженцев двух других клонов, начались процессы подготовки к зиме. Такой резкое увеличение роста в августе, по-видимому, связано с тем, что вегетационный период для этого клона на месяц больше, чем у других клонов, и к этому времени закончилась адаптация растений к выращиванию в условиях *ex vitro*. Учитывая данные о месте произрастания материнских деревьев всех трех клонов, можно говорить о том, что жизненный цикл материнского дерева клона V22 в большей степени адаптирован к местным природным условиям.

При обработке данных по росту и развитию саженцев в период адаптации к условиям *ex vitro* растения внутри каждого клона были разбиты на группы, отличающиеся по высоте стебля в момент высадки (табл. 3).

Из табл. 3 следует, что среди клонов осины только у клона Pt имелись достоверные различия по выживанию растений в зависимости от первоначальной высоты саженцев.

Наибольший процент сохранности растений данного клона приходится на группу с высотой 1–3 см (22,6%). В то же время у клонов 215 и V22 наблюдается явная тенденция к увеличению доли выживших растений у саженцев с высотой стволика больше 3 см – 90% сохранности у клона 215 и 36,4% у клона V22.

Аналогичное явление наблюдается и у клона березы повислой – наибольшей сохранностью характеризуются растения с первоначальной высотой стволика 1–3 см и больше 3 см (62% и 79% соответственно). Основная доля саженцев при выращивании в условиях *in vitro* в течение месяца до пересадки в почвенные условия и у осины, и у березы имела высоту стебля от двух до трех сантиметров. Полученные данные позволяют предположить, что целесообразно увеличить время выращивания саженцев в условиях *in vitro* до полутора месяцев, чтобы основная часть растений достигла высоты 3–4 см.

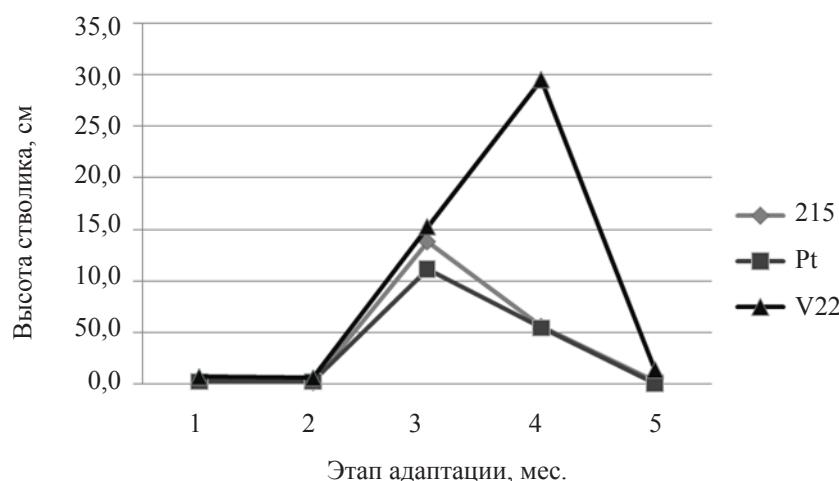


Рис. 2. Динамика прироста регенерантов 3 клонов осины в разные периоды адаптации в условиях закрытого грунта

Таблица 3

**Выживаемость микроклональных растений осины
и березы в зависимости от высоты стволика при посадке из условий *in vitro***

Клон	Высота стволика растений <i>in vitro</i> , см	Количество растений	Сохранность, %				
			1 месяц	2 месяца	3 месяца	4 месяца	5 месяцев
215	<1	8	75,0	62,5	50,0	50,0	50,0
	1–3	81	66,7	63,0	59,3	58,0	58,0
	>3	10	90,0	90,0	90,0	90,0	90,0
Pt	<1	8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	1–3	62	30,6	29,0	25,8	24,2	22,6
	>3	27	11,1	11,1	7,4	3,7	3,7
V22	<1	8	62,5	12,5	12,5	12,5	12,5
	1–3	66	51,5	31,8	31,8	31,8	31,8
	>3	22	40,9	40,9	40,9	40,9	36,4
Береза	<1,0	9	33,3	33,3	33,3	33,3	33,3
	1–3	61	66	62	62	62	62
	>3	34	79	79	79	79	79

При обработке данных по взаимному влиянию морфометрических параметров регенерантов при выращивании в условиях закрытого грунта только у клона осины V22 была обнаружена прямая положительная достоверная зависимость между высотой стволика и количеством листьев (0,96) и высотой стволика и диаметром корневой шейки (0,95) к концу пятого месяца адаптации. Причем эта зависимость проявилась уже после третьего месяца выращивания.

Достаточно высокая прямая зависимость у клона осины Pt между высотой стволика и диаметром корневой шейки – 0,91. У клона 215 коэффициент корреляции между высотой стволика и листьями и диаметром корневой шейки колеблется в пределах 0,81–0,86. У регенерантов березы выявлена незначительная прямая корреляция между высотой стволика и листьями (0,48) и высотой стволика и диаметром корневой шейки (0,50).

Полученные данные можно использовать в дальнейшем для анализа микроклонально размноженного посадочного материала при выращивании в теплице.

Заключение. Исходя из полученных результатов, можно сделать следующие выводы:

1) размер растений для пересадки в почвенный субстрат должен составлять 3–4 см;

2) по особенностям развития растений в стерильных условиях можно прогнозировать их развитие при выращивании в почвенных нестерильных условиях, клон с наиболее развитой надземной частью будет превосходить по росту остальные клоны на протяжении всего периода адаптации;

3) при отборе клонов по параметрам роста следует учитывать географическое место произрастания материнского дерева.

Литература

- Царев, А. П. Селекция и репродукция лесных древесных пород / А. П. Царев, С. П. Погиба, В. В. Тренин // под ред. А. П. Царева. – М.: Логос, 2003. – 520 с.
- Фаустов, В. В. Микроклональное размножение вишни / В. В. Фаустов [и др.] // Изв. ТСХА. – 1988. – Вып. 5. – С. 131–148.
- Трушечкин, В. Г. Клональное микроразмножение косточковых культур в системе производства оздоровленного посадочного материала / В. Г. Трушечкин, В. А. Высоцкий, С. А. Корнацкий // Биология культивируемых клеток и биотехнология: материалы Междунар. конф., Новосибирск, 2–6 авг. 1988 г. / Акад. наук СССР, Ин-т цитологии и генетики, Ин-т физиологии растений им. К. А. Тимирязева; отв. ред. Р. Г. Бутенко – Новосибирск, 1988. – Ч. 2 – С. 319–320.
- Красинская, Т. А. Влияние ионообменного субстрата БИОНА-112 на биохимические показатели физиологического развития растений подвойов 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.
- 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.
- Волосевич, Н. Н. Влияние адаптационных субстратов на морфологическое развитие регенерантов малины сорта Метеор при адаптации *ex vitro* / Н. Н. Волосевич // Плодоводство: сб. науч. ст. / Ин-т плодоводства. – Самохваловичи, 2008. – Т. 20. – С. 37–44.
- Красинская, Т. А. Укоренение *in vitro* и *ex vitro* подвоя вишни и черешни / Т. А. Красинская // Наука и инновации. – 2008. – № 6. – С. 64.

Поступила 14.04.2010