

Научная статья  
УДК 630.232

## ОСОБЕННОСТИ РИЗОГЕНЕЗА ТРИПЛОИДНОЙ ОСИНЫ *IN VITRO*

Сергей Сергеевич Макаров<sup>1</sup>, Антон Игоревич Чудецкий<sup>2</sup>, Евгений Сергеевич Багаев<sup>3</sup>

<sup>1,2,3</sup> Центрально-европейская лесная опытная станция ВНИИЛМ,  
Кострома, Россия

<sup>1</sup> Северный (Арктический) федеральный университет им.  
М. В. Ломоносова, Архангельск, Россия

<sup>1</sup> makarov\_serg44@mail.ru

<sup>2</sup> a.chudetsky@mail.ru

<sup>3</sup> ce-los-lh@mail.ru

**Аннотация.** Приведены результаты исследований по клональному микроразмножению триплоидных форм осины на этапе укоренения микропобегов *in vitro* с использованием различных составов питательных сред и росторегулирующих веществ. Обоснована целесообразность использования клонального микроразмножения при получении посадочного материала для целевого плантационного выращивания хозяйственно ценных форм осины.

**Ключевые слова:** триплоидная осина, клональное микроразмножение, *in vitro*, питательная среда, регуляторы роста

Scientific article

## PECULIARITIES OF RHISOGENESIS OF THE TRIPLOID ASPEN *IN VITRO*

Sergey S. Makarov<sup>1</sup>, Anton I. Chudetsky<sup>2</sup>, Evgeniy S. Bagaev<sup>3</sup>

<sup>1,2,3</sup> Central European Forest Experimental Station, Kostroma, Russia

<sup>1</sup> Northern (Arctic) Federal University named after M.V. Lomonosov,  
Arkhangelsk, Russia

<sup>1</sup> makarov\_serg44@mail.ru

<sup>2</sup> a.chudetsky@mail.ru

<sup>3</sup> ce-los-lh@mail.ru

**Abstract.** The results of studies on clonal micropropagation of triploid aspen forms at the stage of rooting of microshoots *in vitro* using various compositions

of nutrient media and growth-regulating substances are given. The expediency of using clonal micropropagation in obtaining planting material for targeted plantation cultivation of economically valuable aspen forms is substantiated.

**Keywords:** triploid aspen, clonal micropropagation, *in vitro*, nutrient medium, growth regulators

В последние десятилетия в мировом лесном хозяйстве наблюдается устойчивая тенденция перехода от традиционного лесоводства к плантационному выращиванию древесины с коротким циклом ротации и использованием современных достижений биотехнологии [1]. В мире ежегодно создается около 1 млн га плантационных культур для получения балансов, пиловочника и топливной древесины [2]. Создание целевых лесных плантаций и переход к организации устойчивого лесопользования позволит предприятиям по глубокой переработке древесины решить проблему приближения сырья к производству, сократить затраты на создание лесной инфраструктуры и обеспечить их дальнейшее развитие. Широкомасштабное создание лесосырьевых плантаций для выращивания быстрорастущих древесных пород с целевым использованием древесины (для перерабатывающей промышленности и топливно-энергетических целей) необходимо для реального совмещения интенсификации лесного хозяйства и лесопользования, это позволит ликвидировать дефицит маломерного древесного сырья для развития целлюлозных, плитных и биотопливных производств, а также ускорить (в 1,5–3 раза) получение целевой древесины по сравнению с традиционным лесокультурным способом, о чем свидетельствует опыт таких высокоразвитых стран, как Германия, Финляндия, Канада, Италия и др.) [3; 4].

Осина (*Populus tremula* L.) – одна из самых быстрорастущих и скороспелых древесных пород, которая является перспективной в качестве продуцента сырья и биотоплива для плантационного выращивания в России. Ее древесина используется в целлюлозно-бумажной промышленности, строительстве, производстве древесных плит и многих других сферах [5]. Современные технологии глубокой переработки древесины открывают новые направления использования древесины осины: производство древесного биотоплива, экологически чистых прессованных и композитных материалов, наноцеллюлозы, сырья для фармацевтической, пищевой, парфюмерной промышленности и др. Однако широкому использованию осины препятствует массовая повреждаемость деревьев стволовой гнилью, вызываемой ложным осиновым трутовиком (*Phellinus tremulae* (Bond.) Bond. Et. Boris.) [6].

Уникальные лесоводственные качества быстрорастущих триплоидных клонов осины, отобранных в генетическом резервате в Шарьинском районе Костромской области по скорости роста, устойчивости к гнилям, высокому качеству древесины, обуславливают важность сохранения и

воспроизводства их ценного генофонда [7; 8]. На базе генетического резервата может быть реализовано плантационное выращивание элитных клонов осины, что приобретает актуальное значение в условиях возрастающего спроса на древесину лиственных пород в связи с развитием плитного производства и перспективами внедрения инновационных технологий глубокой механической, химической и энергетической переработки древесины. Создание быстрорастущих плантаций осины особенно актуально в зоне деятельности современных предприятий лесопромышленного комплекса, использующих древесину мягколиственных пород.

На сегодняшний день плантации триплоидной осины заложены в различных регионах России – в Ленинградской, Воронежской, Московской областях, республиках Марий Эл и Татарстан. В Ленинградской области существуют плантационные культуры осины, заложенные опытным посадочным материалом, выращенным методом клонального микроразмножения [9; 10]. Возраст рубки плантаций осины – 30 лет, продуктивность – до 400 м<sup>3</sup>/га [11]. Опыты ВНИИЛГИСбиотех по плантационному выращиванию лиственной древесины в течение 30 лет позволили получить урожай осины со средним объемом ствола 1,1–1,8 м<sup>3</sup>. Средний запас древесины на 1 га составил 720 м<sup>3</sup>/га, базисная плотность древесины – 395 кг/м<sup>3</sup> [2]. Есть мнение, что запас древесины около 100 м<sup>3</sup>/га достигается на плантациях: осины триплоидной за 15 лет [3]. Опыт скандинавских стран плантационного выращивания триплоидной осины показал возможность получения здоровой древесины на балансовые сортименты уже через 12–14 лет после посадки [5].

В целях плантационного выращивания целесообразно использование метода клонального микроразмножения, позволяющего в короткие сроки круглодично получать большое количество элитного оздоровленного посадочного материала, в том числе плохо размножаемых традиционными способами видов [12]. Исследованиями по введению в культуру *in vitro* триплоидных форм осины до настоящего времени занимался ряд российских исследователей в различных регионах страны [13-18]. С 2010 г. исследования проводятся на базе Центрально-европейской лесной опытной станции ВНИИЛМ [4; 19; 20], при этом необходимо совершенствование технологии микроклонального размножения триплоидной осины, включая подбор оптимального состава питательных сред, концентраций регуляторов роста и применение современных ростостимулирующих препаратов.

Исследования по клональному микроразмножению проводились в 2019–2022 гг. на базе филиала ФБУ ВНИИЛМ «Центрально-европейская ЛОС» по общепринятым методикам [12; 21]. В качестве объектов исследований использовали экспланты растений триплоидной осины, клонов №27 и №35, отобранных в генетическом резервате в Шарьинском

районе Костромской области. Растения культивировали на питательных средах Wood Plant Medium (WPM) и Мурасиге-Скуга (MS), в том числе в вариантах разбавления минеральной основы в 2 раза, в условиях световой комнаты при температуре +23...+25°C, влажности 75–80 % и фотопериоде 16/8 ч. На этапе «укоренение микропобегов» в качестве ауксинов использовали индолилуксусную (ИУК) и индолилмасляную (ИМК) кислоты в концентрациях 0,5 и 1,0 мг/л (рис. 1). Учитывали количество, среднюю и суммарную длину корней на одно растение-регенерант. Опыты проводили в 10-кратной биологической и 2-кратной аналитической повторностях. В каждом варианте учитывали по 15 пробирочных растений.



Рис. 1. Укоренение микропобегов триплоидной осины *in vitro* с добавлением в питательную среду ауксинов:  
а – ИУК; б – ИМК

В результате проведенных исследований на этапе «укоренение микропобегов *in vitro*» значимых различий по количеству корней у растений-регенерантов триплоидной осины в зависимости от состава питательной среды не выявлено, оно составляло в среднем 1,8–2,5 шт. С повышением в питательной среде концентрации ауксина ИУК от 1,0 до 2,0 мг/л количество корней на одно растение триплоидной осины увеличивалось в среднем в 1,8 раза, а в вариантах с ИМК – в 1,5 раза (табл. 1).

Средняя длина корней триплоидной осины (в среднем 1,0–1,3 см) не имела статистически значимых различий в зависимости как от состава питательной среды, так и от концентраций ауксинов (табл. 2).

Таблица 1

Количество корней (шт.) триплоидной осины *in vitro* в зависимости от состава питательной среды и концентрации ауксинов

Питательная среда	Концентрация ауксина, мг/л				Среднее
	ИУК		ИМК		
	0,5	1,0	0,5	1,0	
WPM	1,3	2,4	2,7	3,4	2,5
WPM 1/2	1,0	2,0	1,3	3,0	1,8
MS	1,5	2,2	1,9	3,3	2,2
MS 1/2	1,3	2,5	2,3	3,2	2,3
Среднее	1,3	2,3	2,1	3,2	-
НСР <sub>05</sub> фактор А = 1,99, фактор В = 1,73, общ. = 2,01					

Таблица 2

Средняя длина корней (шт.) триплоидной осины *in vitro* в зависимости от состава питательной среды и концентрации ауксинов

Питательная среда	Концентрация ауксина, мг/л				Среднее
	ИУК		ИМК		
	0,5	1,0	0,5	1,0	
WPM	1,0	1,5	1,0	1,5	1,3
WPM 1/2	1,0	1,5	1,0	1,5	1,3
MS	1,0	1,0	0,9	1,2	1,0
MS 1/2	1,2	1,3	0,8	1,3	1,2
Среднее	1,1	1,3	1,0	1,4	-
НСР <sub>05</sub> фактор А = 0,78, фактор В = 0,81, общ. = 0,96					

Суммарная длина корней осины триплоидной не имела статистически значимых различий в зависимости от состава питательной среды и варьировала в среднем от 2,4 до 3,2 см. При повышении концентрации ауксина ИМК от 0,5 до 1,0 мг/л суммарная длина корней триплоидной осины *in vitro* существенно увеличивалась в среднем в 2,4 раза, а при использовании ауксина ИУК – в 2,3 раза. При этом максимальная суммарная длина корней (5,1 см) триплоидной осины отмечена в варианте с питательной средой WPM и концентрацией ауксина ИМК 1,0 мг/л (табл. 3).

Таким образом, по результатам проведенных исследований можно сделать следующие выводы.

1. Количество, средняя и суммарная длина корней триплоидной осины *in vitro* не имели статистически значимых различий в зависимости от состава исследуемых питательных сред.

2. При клональном микроразмножении триплоидной осины *in vitro* с повышением в питательной среде концентраций ИМК и ИУК от 1,0 до 2,0 мг/л существенно увеличивалась суммарная длина корней растений-регенерантов.

3. Максимальная суммарная длина корней триплоидной осины *in vitro* выявлена в варианте с питательной средой WPM и концентрацией ауксина ИМК 1,0 мг/л.

4. Использование метода клонального микроразмножения перспективно для получения посадочного материала триплоидной осины в целях плантационного выращивания.

Таблица 3

Суммарная длина корней (шт.) триплоидной осины *in vitro* в зависимости от состава питательной среды и концентрации ауксинов

Питательная среда	Концентрация ауксина, мг/л				Среднее
	ИУК		ИМК		
	0,5	1,0	0,5	1,0	
WPM	1,3	3,6	2,7	5,1	3,2
WPM 1/2	1,0	3,0	1,3	4,5	2,5
MS	1,5	2,2	1,7	4,0	2,4
MS 1/2	1,3	3,3	1,8	4,2	2,7
Среднее	1,3	3,0	1,9	4,6	-
НСР <sub>05</sub> фактор А = 1,72, фактор В = 1,65, общ. = 2,01					

Список источников

1. Forestry's Fertile Crescent: the Application of Biotechnology to Forest Trees / М. М. Campbell [et al.] // Plant Biotechnology Journal. 2003. № 1. Р. 141–154.
2. Паничев Г. П. Плантационное выращивание лесных ресурсов / Вестник МГУЛ Лесной вестник. Сер. : Экономика. 2014. № 3. С. 43–46.
3. Крылов В., Ковалева О., Смирнов А. Промышленные лесосырьевые плантации как новый лесной бизнес // ЛесПромИнформ. 2015. № 3. С. 44–46.
4. Исполинская осина: биологические особенности и перспективы плантационного выращивания : моногр. / Е. С. Багаев [и др.]. Пушкино: ВНИИЛМ, 2021. 72 с.
5. Кузнецов А. Осина как ценное древесное сырье // ЛесПромИнформ. 2009. № 8. С. 94–98.
6. Яблоков А. С. Воспитание и разведение здоровой осины. М. : Гослесбумиздат, 1963. 441 с.
7. Багаев Е. С. Генетический резерват осины исполинской в Костромской обл. // Лесохозяйственная информация. 2008. № 10–11. С. 36–38.
8. Особенности формирования быстрорастущих клонов в генетическом резервате исполинской осины / Е. С. Багаев, И. А. Коренев, С. С. Багаев, Д. Н. Зонтиков. // Лесное хозяйство. 2013. № 2. С. 26–28.

9. Шабунин Д. А., Подольская В. А., Бовичева Н. А. Получение посадочного материала быстрорастущих форм осины с использованием метода *in vitro* и закладка плантаций // Лесохозяйственная информация. 2008. № 3–4. С. 51–53.

10. Жигунов А. В., Шабунин Д. А., Бутенко О. Ю. Лесные плантации триплоидной осины, созданные посадочным материалом *in vitro* // Вестник ПГТУ. Сер.: Лес. Экология. Природопользование. 2014. № 4 (24). С. 21–30.

11. Багаев Е. С., Рыжова Н. В., Шутов В. В. Ведение хозяйства в осиновых лесах Костромской области: моногр. Кострома: КГТУ, 2014. 138 с.

12. Сельскохозяйственная биотехнология и биоинженерия / В. С. Шевелуха [и др.]. М. : URSS, 2015. 715 с.

13. Выращивание саженцев триплоидной осины из регенерантов, полученных по технологии *in vitro* / Н. А. Бовичева [и др.]. : Тр. СПбНИИЛХ. 2006. № 3 (16). С. 68–76.

14. Micropropagation of Highly Productive Forms of Diploid and Triploid Aspen / D. Zontikov, S. Zontikova, M. Sirotina [et al.] // Advanced Materials Research. 2014. Vol. 962–965. P. 681–690.

15. Гарипов Н. Р. Отбор и выращивание триплоидной осины (*Populus tremula* L.) с применением методов молекулярной генетики и биотехнологии в республике Татарстан: дисс. канд. с.-х. наук: 06.03.01. М. : ВНИИЛМ, 2014. 128 с.

16. Лебедев В. Г., Шестибратов К. А. Опыт создания биотехнологических форм древесных растений // Лесоведение, 2015. № 3. С. 222–232.

17. Полевые испытания размноженных *in vitro* клонов осины (*Populus tremula* L.): рост, продуктивность, качество древесины, генетическая стабильность / О. С. Машкина, Е. А. Шабанова, И. Н. Вариводина, Т. А. Гродецкая // ИВУЗ. Лесной журнал. 2019. № 6. С. 25–38.

18. 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.

19. Зонтиков Д. Н., Коренев И. А. Факторы, влияющие на морфогенез триплоидной осины в культуре *in vitro* // Инновации и технологии в лесном хозяйстве: матер. II Междунар. науч.-практ. конф. (г. Санкт-Петербург, 6–7 февраля 2012 г.). СПб.: СПбНИИЛХ, 2012. Ч. 2. С. 99–104.

20. Макаров С. С., Панкратова А. А. Изучение влияния росторегулирующих веществ различной природы при клональном микроразмножении осины // Лесохозяйственная информация. 2016. № 3. С. 138–143. URL: <http://lhi.vniilm.ru/> (дата обращения: 09.09.2022).

21. Калашникова Е. А. Клеточная инженерия растений : учеб. пособие. М. : Изд-во РГАУ-МСХА, 2012. 217 с.