

УДК 631.532:57.043

ОПТИМИЗАЦИЯ СПЕКТРАЛЬНОГО СОСТАВА, ИНТЕНСИВНОСТИ ОСВЕЩЕНИЯ И ДЛИТЕЛЬНОСТИ ФОТОПЕРИОДА ДЛЯ ТЕХНОЛОГИИ МИКРОКЛОНАЛЬНОГО РАЗМНОЖЕНИЯ ГИБРИДОВ ТОПОЛЕЙ

И.В. Могилевская, О.О. Жолобова, Т.В. Терещенко, А.М. Пугачёва, А.В. Солонкин
ФНЦ агроэкологии РАН, Волгоград, Россия

В настоящее время светодиодные технологии активно применяются в различных областях, в том числе для микроклонального размножения древесных растений, используемых для городского озеленения и в агролесомелиорации. В рамках данного исследования был выбран перспективный гибрид *Populus F1-3 g14*, полученный в результате целенаправленного скрещивания двух видов тополей: *Populus deltoides* W. Bartram и *Populus alba* L., широко интродуцированных в Российской Федерации и за ее пределами. Данный гибрид обладает способностью к быстрому росту, устойчив к засушливым условиям климата, что делает его перспективным для использования в зонах с малым количеством осадков в течение года. Целью исследования был анализ влияния различных соотношений спектров, интенсивности освещения светодиодных ламп, а также длительности фотопериода на процессы роста и развития гибрида *Populus F1-3 g14*. Растения выращивались в строго контролируемых условиях на питательной среде Murashige и Scoog без добавления регуляторов роста и с добавлением ауксина ИМК в концентрации 0,01 мг/л. Определены оптимальные параметры освещения для его размножения: сочетание спектров 1КС:1СС:0,53С и фотосинтетическая плотность потока фотонов 70 мкмоль м⁻² с⁻¹. Для развития корневой системы рекомендуется использовать соотношение спектров 2,5КС:1СС:0,43С в сочетании с интенсивностью освещения 40-70 мкмоль м⁻² с⁻¹. Результаты исследования влияния 6 вариантов фотопериода для данного гибрида позволили оптимизировать длительность световой и темной частей суток в искусственных условиях. Эти результаты дают ценные рекомендации по использованию световых спектров, интенсивности освещения, а также длительности фотопериода при выращивании гибрида *Populus F1-3 g14* в условиях *in vitro*.

Ключевые слова: *Populus*, микроклональное размножение, спектральный состав, фотопериод, интенсивность освещения

OPTIMIZATION OF SPECTRAL COMPOSITION, LIGHT INTENSITY AND PHOTOPERIOD DURATION FOR THE MICROCLONAL REPRODUCTION TECHNOLOGY OF *POPULUS* HYBRIDS

I.V. Mogilevskaya, O.O. Zholobova, T.V. Tereshchenko, A.M. Pugacheva, A.V. Solonkin
FSC Agroecology RAS, Volgograd, Russia

Currently, LED technologies are actively used in various fields, including for microclonal reproduction of woody plants that are promising for urban landscaping and agroforestry. Within the framework of this study, a promising hybrid *Populus F1-3 g14* was selected, obtained as a result of the purposeful crossing of two species of poplars: *Populus deltoides* W. Bartram and *Populus alba* L., widely introduced in the Russian Federation and abroad. This hybrid has the ability to grow rapidly and is resistant to arid climate conditions, making it promising for use in areas with low rainfall throughout the year. The aim of the study was to analyze the effect of various spectrum ratios, the light intensity of LED lamps, as well as the duration of the photoperiod on the growth and development processes of the *Populus F1-3 g14* hybrid. The plants were grown under strictly controlled conditions in Murashige and Scoog nutrient medium without the addition of growth regulators and with the addition of 0.01 mg L⁻¹ IBA. The optimal lighting parameters for its reproduction have been determined: a combination of 1R: 1B: 0.5G spectra and a photosynthetic photon flux density of 70 mmol m⁻² s⁻¹. For the development of the root system, it is recommended to use a spectrum ratio of 2.5R: 1B: 0.4G and light intensity of 40 - 70 mmol m⁻² s⁻¹. The results of the 6 photoperiod variant effect research for this hybrid made it possible

to optimize the conditions for using the duration of light. These results provide valuable recommendations on the use of light spectra and intensity, and photoperiod duration when growing the *Populus* F1-3 g14 hybrid under in vitro conditions.

Keywords: *Populus*, micropropagation, spectral ratio, photoperiod duration, light intensity

Тополь — это одна из первостепенных пород для преодоления лесного дефицита в регионах с недостатком зеленых насаждений [2]. В умеренной зоне данная древесная культура очень быстро растет в течение первого десятилетия. Такое свойство делает его интересным объектом для ученых-исследователей разных стран [10, 7, 4, 3]. Интенсивность транспирации, продуктивность фотосинтеза, секвестрационная способность у тополей значительно выше, чем у других древесных пород [1]. Перечисленные свойства позволяют отнести тополь к хозяйственно важным видам деревьев в связи со способностью к интенсивному росту и накоплению за короткий промежуток времени больших запасов древесины. В то же время использование в современных условиях биотехнологических методов на начальном этапе выращивания становится выгодным инструментом для воспроизводства древесных культур с заданными характеристиками.

Эффективность биотехнологических методов выращивания растений *in vitro* сильно зависит от условий культивирования, в том числе искусственного освещения [12]. Светодиодные технологии сегодня находят большее применение благодаря большому сроку службы, возможности регулировки интенсивности света, увеличенной электрической эффективности, компактному размеру и снижению тепловыделения при использовании LED-ламп [11, 6]. Такие светильники обычно располагают ближе к растениям, это обеспечивает более высокую концентрацию фотонов и, как следствие, приводит к увеличению продуктивности фотосинтеза, а также и сокращению затрат на поддержание оптимальной температуры воздуха в помещении для культивирования [8].

Светодиоды (LED) позволяют комбинировать различные длины волн, тогда индивидуально подобранное их сочетание способствует получению желательных характеристик роста для исследуемых видов и культурных сортов [5]. Для древесных растений рода *Populus* такие исследования влияния интенсивности света и спектрального состава *in vitro* остаются актуальными в связи с недостаточностью сведений для подбора оптимальных контролируемых условий. Целью нашего исследования являлась оптимизация спектрального состава, интенсивности освещения и длительности фотопериода для технологии микроклонального размножения гибридов тополей на примере быстрорастущего клона *Populus* F1-3 g14.

Объект исследований был получен от целенаправленного скрещивания на срезанных ветвях отобранных родительских линий *Populus deltoids* и *Populus alba* в коллекции ФНЦ агроэкологии РАН. Из незрелых зеленых семенных коробочек в стерильных условиях изолированы зародыши, которые были введены в питательную среду, содержащую половину количеств макро- и микросолей по протоколу Murashige and Skoog ($\frac{1}{2}$ MS) [9]. Для культивирования в искусственных условиях освещения использовали питательную среду (MS) полного состава без добавления гормонов. Из полученных гибридов для исследования параметров освещения в условиях *in vitro* выбран быстрорастущий гибрид *Populus* F1-3 g14.

Необходимые уровни освещенности, а именно 6 вариантов спектрального состава с различной интенсивностью от 20 до 225 мкмоль $\text{м}^{-2}\text{с}^{-1}$ установили с помощью компактного датчика спектрального состава фотонного потока с сенсорным экраном JL600D и программного обеспечения UspectrumX 1.00, а также онлайн-конвертера единиц измерения освещенности. Для культивирования в искусственных условиях использовали экспланты гибрида *Populus* F1-3 g14 средней длиной $1.25 \pm 0,3$ см после 6 пассажей. Все экспериментальные образцы для выявления оптимального спектрального состава и необходимой интенсивности освещения выращивали в течение 6 недель на среде MS полного состава без добавления регуляторов роста при контролируемых условиях температуры ($23 \pm 1^\circ\text{C}$) и фотопериода (16/8 ч) и различной интенсивности освещения. Для определения влияния длительности фотопериода на укоренение эксплантов *Populus* F1-3 g14 проводили эксперимент в климатической камере «Ve Farm Clima 2» (Россия). Исследовали 6 вариантов фотопериода (День-Ночь, ч): 24/0, 20/4, 16/8, 14/10, 12/12,

8/16 при температуре ($23 \pm 1^\circ\text{C}$) в течение 2 недель и интенсивности освещения $40 \text{ мкмоль м}^{-2}\text{с}^{-1}$.

В результате проведенных исследований после 6 недель культивирования отмечены различные реакции регенерантов на спектральный состав и интенсивность освещения. При использовании сочетания спектров красного (КС), синего (СС) и зеленого (ЗС) в соотношении $1\text{КС}:1\text{СС}:0,5\text{ЗС}$ и интенсивности освещения $70 \text{ мкмоль м}^{-1}\text{с}^{-2}$ выявлены максимальные длина и прирост побега, количество и площадь листовых пластин, поэтому такие параметры можно рекомендовать как оптимальные для размножения *in vitro* гибрида *Populus F 1-3 g14* (*Populus deltoids* × *Populus alba*). Интенсивность более $125 \text{ мкмоль м}^{-1}\text{с}^{-2}$ отрицательно сказывалась на параметрах роста регенерантов при всех сочетаниях спектров, кроме $0,5\text{КС}:1\text{СС}:0,03\text{ЗС}$. Обнаружено отрицательное влияние на прирост побега, свежую массу при увеличении доли красного спектра к синему до $2\text{КС}:1\text{СС}$. Одновременное увеличение красной составляющей спектра и интенсивности освещения уменьшили показатели пигментного состава, а именно общего хлорофилла и индекса азотного баланса почти в 2 раза по сравнению с полученными данными при сочетании спектров $1\text{КС}:1\text{СС}:0,05\text{ЗС}$. При сочетании спектров $2,5\text{КС}:1\text{СС}:0,43\text{ЗС}$ был отмечен наибольший процент укорененных эксплантов, что позволило использовать данное сочетание с меньшей интенсивностью освещения для изучения влияния длительности фотопериода на процесс укоренения при использовании среды без регуляторов роста и с добавлением ауксина ИМК в минимальной концентрации $0,01 \text{ мг/л}$ (рис.1).

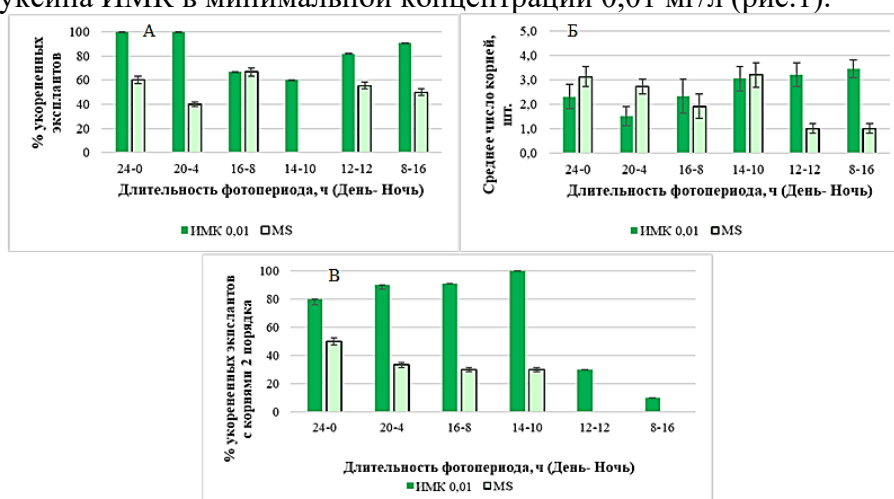


Рисунок 1. Влияние длительности фотопериода на параметры укоренения микропобегов гибрида *Populus F1-3 g14* при культивировании в течение 14 суток на питательной среде MS без добавления гормонов и с добавлением ауксина ИМК ($0,01 \text{ мг/л}$): А - % укорененных эксплантов, шт.; Б - среднее число корней, шт.; В - % укорененных эксплантов с корнями второго порядка, шт. MS – безгормональная питательная среда; ИМК $0,01$ – индолил-3-масляная кислота $0,01 \text{ мг/л}$.

Уменьшение длительности фотопериода (8/16 ч) способствовало увеличению числа корней на среде с добавлением ИМК (рис.1 Б). Максимальный процент укорененных эксплантов отмечен при увеличении длительности светового дня до 20-24 ч на среде с добавлением ИМК (рис. 1А). При отсутствии регуляторов роста максимум данного параметра отмечен при фотопериоде 16/8. Появлению корней второго порядка в 100% случаев также способствовала длительность фотопериода 14/10 ч на среде MS с добавлением ИМК ($0,01 \text{ мг/л}$), в то время как на безгормональной среде максимум (50%) был отмечен при увеличенном световом периоде (24/0). Таким образом, в результате проведенных исследований были определены параметры освещения для перспективного в городском озеленении гибрида *Populus F1-3 g14* в культуре *in vitro*. Сочетание спектров $1\text{КС}:1\text{СС}:0,5\text{ЗС}$ и интенсивность освещения $70 \text{ мкмоль м}^{-2} \text{ с}^{-1}$ оптимальны для стадии размножения исследуемого гибрида, а для укоренения можно рекомендовать сочетание $2,5\text{КС}:1\text{СС}:0,43\text{ЗС}$ с добавлением ауксина ИМК в концентрации $0,01$

мг/л при длительности фотопериода 14/10 ч. Таким образом, использование гормонов для развития корневой системы совместно с регулированием длительности фотопериода позволяет получить развитую корневую систему у гибрида *Populus* F1-3 g14 в культуре *in vitro*.

Благодарности. Исследование проводилось за счет средств государственного научного гранта Волгоградской области в форме субсидии для реализации проекта «Разработка принципов селективного отбора засухоустойчивых гибридов, форм и клонов тополей в культуре *in vitro*» № 124012200177-7

Библиографический список

1. Евлаков П. М., Гродецкая Т. А., Болтнев И. А. Оценка углерододепонирующей способности быстрорастущих тополей // Состояние и перспективы развития агропромышленного комплекса: сборник научных трудов XVI Международной научно-практической конференции в рамках XXVI Агропромышленного форума юга России и выставки «Интерагромаш» и «Агротехнологии», Ростов-на-Дону, 01–03 марта 2023 года / Донской государственный технический университет. Ростов-на-Дону. 2023. С. 116-117. – DOI 10.23947/interagro.2023.116-117.
2. Царев А. П. Биолого-структурные особенности и палеоисхождение рода *Populus* L. (Обзор) // Лесной вестник / Forestry Bulletin. 2019. Т. 23. № 2. С. 121–126. DOI: 10.18698/2542-1468-2019-2-121-126.
3. Шабунин Д. А., Бутенко О. Ю. Получение мутантов высокопродуктивных генотипов тополя сереющего с использованием метода индуцированного мутагенеза в условиях культуры *in vitro* // Труды Санкт-Петербургского научно-исследовательского института лесного хозяйства. 2021. № 2. С. 4-16. DOI 10.21178/2079-6080.2021.2.4.
4. Эрст А. А., Каракулов А. В. Оценка засухоустойчивости декоративных форм тополей в культуре *in vitro* // Сибирский экологический журнал. 2023. Т. 30, № 3. С. 321-329. DOI 10.15372/SEJ20230309.
5. Batista D. S., Felipe S. H. S., Silva T. D., de Castro K. M., Mamedes-Rodrigues T. C., Miranda N. A., Ríos-Ríos A. M., Faria D. V., Fortini E. A., Chagas K., Torres-Silva G. Light quality in plant tissue culture: Does it matter? // In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant. 2018. Vol. 54. P. 195-215. DOI: 10.1007/s11627-018-9902-5627-018-9939-5.
6. Kondratovičs, T.; Zeps, M.; Rupeika, D.; Zeltinš, P. Morphological and Physiological Responses of Hybrid Aspen (*Populus tremuloides* Michx. × *Populus tremula* L.) Clones to Light In Vitro // Plants. 2022. Vol. 11, № 20. P. 2692. DOI: 10.3390/plants11202692.
7. Liu C., Liu N., Ding C., Liu, F., Su X., Huang Q. Growth of *Populus* × *euramericana* Plantlet under Different Light Durations. Forests. 2023. Vol.14. P. 579. DOI: 10.3390/f14030579.
8. Miler N., Kulus D., Woźny A., Rymarz D., Hajzer M., Wierzbowski K., Szeffs L. Application of wide-spectrum light-emitting diodes in micropropagation of popular ornamental plant species: A study on plant quality and cost reduction // In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant. 2019. Vol. 55. P. 99-108. DOI: 10.1007/s11.
9. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture // Physiol. Plant. 1962. Vol. 15, № 3. P. 473–497.
10. Roviđa Kojima E. A., Gonzalez C. V., Mundo I. A., Guevara A., Biruk L. N. Giordano, C. V. Differential responses of *Populus deltoides* and *Populus* × *canadensis* clones to short-term water deficit // New Forests. 2023. Vol. 54, № 3, P. 421-437. DOI: 10.1007/s11056-022-09929-7.
11. Wu H., Lin C. Red Light-emitting Diode Light Irradiation Improves Root and Leaf Formation in Difficult-to-propagate *Protea cynaroides* L. Plantlets In Vitro // HortScience. 2012. Vol. 47, №10. P. 1490-1494. DOI:10.21273/HORTSCI.47.10.1490.
12. Zeps M., Kondratovičs T., Grigžde E., Jansons A., Zeltinš P., Samsone I., Matisons R. Plantlet Anatomy of Silver Birch (*Betula pendula* Roth.) and Hybrid Aspen (*Populus tremuloides* Michx. × *Populus tremula* L.) Shows Intraspecific Reactions to Illumination In Vitro // Plants. 2022. Vol.11. P. 1097. DOI: 10.3390/plants11081097.