

THE ADAPTATION OF THE MICROCLONAL REGENERANTS OF THE KARELIAN BIRCH FOR NON-STERIL CONDITIONS OF THE GROWTH IN THE ION EXCHANGE SUBSTRATE

Obukhovskaya L.V., Makarova T.B., Oleshuk E.N.

The Institute of the Experimental Botany named of V.P.Kuprevich of The National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Akademicheskaya, St., 27. E-mail: r149@biobel.bas-net.by

Abstract. The ion-exchanged substrate was used for adaptation of the microclone regenerants of the *Betula pendula* Roth. var. *carelica* (Mewrcklin) for non-steril conditions of growth. The behaviour of biometrical parameters and the activity of the photosynthesis and respirations has demonstrated the effectiveness of this substrate. The regenerants were growed for transplantation *in vivo* during 6–8 month.

АДАПТАЦИЯ МИКРОКЛОНАЛЬНЫХ РЕГЕНЕРАНТОВ КАРЕЛЬСКОЙ БЕРЕЗЫ К НЕСТЕРИЛЬНЫМ УСЛОВИЯМ РОСТА НА ИОНООБМЕННОМ СУБСТРАТЕ

Обуховская Л.В., Макарова Т.Б., Олешук Е.Н.

Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф.Купревича НАН Беларуси, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27, т. (+375 17) 284 2030; E-mail: r149@biobel.bas-net.by

Среди многообразия видов и форм берез отдельным вопросом стоит сохранение и пополнение природных запасов карельской березы. Являясь высоко декоративной, ее древесина обладает рядом и других ценных свойств, например, высокой твердостью. Феномен образования такой древесины не познан до конца, до сих пор у исследователей нет единого мнения о причинах развития аномалий у растений березы повислой, приводящих к ее формированию. И хотя ареал ее произрастания довольно широк, но природные запасы не так уже велики. Поэтому во многих странах ведется работа по созданию искусственных промышленных плантаций карельской березы. В настоящее время широко для этого используется метод микроклонального размножения, позволяющий в короткое время получать большое количество ценного посадочного материала необходимого качества и свойств. Ведется разработка технологий микроклонального размножения и адаптации полученных стерильных регенерантов растений древесных пород к нестерильным условиям роста. Технологии адаптации включают подбор субстрата для адаптации, а также оптимальных условий для адаптации, роста и развития – освещенность, фотопериод, влажность воздуха и субстрата, температурный режим. Немаловажным фактором является определение оптимальных сроков высадки регенерантов.

Традиционно для адаптации стерильных микроклональных регенерантов растений используют торфосмеси [2] и лесные почвы [5]. Был предложен сложный двухслойный субстрат из стерильного перлита и смеси торфа, песка и почвы [15]. В сочетании с туманообразующими установками удавалось создать на них благоприятные условия для высокой приживаемости стерильных регенерантов. И все же проблема успешной адаптации микроклональных регенерантов остается актуальной.

Ранее была показана [12] высокая перспективность применения ионообменных субстратов (ИОС) для выращивания растений, так как они имеют ряд преимуществ по сравнению с используемыми до сих пор торфосмесями. Так, для них возможна полная воспроизводимость состава, способность его варьирования, а также многократной регенерации после использования. В Институте экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси в лаборатории оптимизации минерального питания и фотосинтеза уже в течение нескольких лет успешно используется для адаптации и выращивания микроклональных регенерантов картофеля ИОС «Триона», разработанный в лаборатории [9, 13]. Поэтому были проведены исследования возможности использования его для адаптации к нестерильным условиям выращивания и первичного роста регенерантов карельской березы разных форм.

Целью нашей работы было оптимизировать ИОС «Триона» для адаптации стерильных регенерантов карельской березы, а также для дорастивания их до саженцев, пригодных для высадки в открытый грунт. В первую очередь, это касалось значения его pH. Созданные экспериментальные партии субстрата были испытаны в лаборатории оптимизации минерального питания и фотосинтеза Института экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси и показали полную пригодность для адаптации и выращивания микроклональных регенерантов берез разных видов и форм [7, 8].

Метод выращивания растений на искусственных ионитных субстратах был предложен в 60-е годы XX в. как альтернатива гидропонному. Поскольку содержание обменно-связанных элементов минерального питания в естественных почвах в десятки раз превосходит содержание этих элементов в водорастворимой форме, питание растений в естественных условиях происходит преимущественно за счет элементов, находящихся в связанной форме. Многолетними исследованиями было установлено [12], что питательные среды, содержащие биогенные элементы в обменно-связанной форме, имеют преимущества по сравнению с солевыми питательными средами:

1) в связи с отсутствием в них осмотически активных электролитов концентрация элементов питания может быть в десятки раз большей, чем в питательных растворах, лимитировать ее будет лишь величина обменной емкости используемых ионитов;

2) соотношение катионов и анионов в таких средах можно изменять независимо друг от друга, что создает широкие возможности для изучения вопросов взаимного влияния ионов на доступность их растениям и дефицита отдельных ионов при питании растений;

3) использование ионообменных материалов в качестве носителей биогенных элементов не сопровождается нежелательными для роста и развития растений изменениями pH среды, а также исключается выпадение в осадок солей, имеющее место в солевых питательных средах;

4) нет необходимости в дополнительной аэрации (как в гидропонике).

Все это способствовало тому, что для выращивания растений в условиях закрытого грунта довольно широко стали использоваться ИОС, т.е. питательные субстраты на основе ионитов (веществ, не растворимых в воде и способных к реакциям обмена ионов), прежде всего ионообменных смол. Являясь полимерами пространственного строения, цепи которых несут заряженные группы атомов, ионообменные смолы способны удерживать ионы биогенных элементов, что позволяет создавать композиции любого состава и питательности. ИОС могут быть полностью синтетическими или содержать природные добавки. Этим будут определяться их агрофизические свойства: распределение по фазам (твердой, жидкой и газообразной), водоудерживающая способность, аэрированность.

Наиболее распространены синтетические ионообменные смолы, но в последнее время все большее признание приобретают ИОС на основе цеолитов – природного материала, обладающего свойствами ионообменника [6, 11]. Каркасная структура цеолитов образуется из катионов, входящих в тетраэдры (обычно кремниевые или алюминиевые); в вершинах которых каждый атом кислорода принадлежит двум тетраэдрам. В цеолитах атомов кислорода в 2 раза больше, чем тетраэдрических катионов. Пустоты, имеющиеся в каркасе из тетраэдров, заняты в природных цеолитах крупными одно- и двухвалентными катионами, такими как Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} и Ba^{2+} . Другие катионы могут быть заведены в эти позиции с помощью ионообменной реакции или при непосредственном синтезе в лабораторных условиях. Положительный заряд этих катионов компенсирует избыток отрицательного заряда, возникающего из-за присутствия в каркасе Al^{3+} . Структура рыхлая. Их отличает высокая гидрофильная способность [11]. Все эти качества давали основания предполагать, что созданный в лаборатории оптимизации минерального питания и фотосинтеза ИОС «Триона» может служить подходящей почвой для адаптации и выращивания регенерантов берез.

ИОС «Триона» представляет собой композицию из ионообменных синтетических полимеров (катионит КУ-2х8, анионит АН-2Ф), природного катионита (Сокирницкий цеолит) и инертного наполнителя (перлит), оптимизированную для адаптации и выращивания регенерантов берез [7, 8].

О физиологическом состоянии регенерантов судили по биометрическим показателям (высота, количество междоузлий, количество листьев, диаметр стволика), изменению кислородного баланса темнового дыхания и фотосинтеза. Для измерения брали третий сверху полностью сформированный лист. Кислородный баланс темнового дыхания и фотосинтеза определяли с помощью измерительной системы Plant Vital-530, в которой используется специальный электрохимический сенсор кислорода (электрод Кларка), измеряющий изменение концентрации кислорода в период полной темноты и включения света определенной длины волны с течением времени.

В качестве объективного показателя физиологического состояния растения использовали коэффициент фотосинтетической эффективности растений $K_{фз}$, который представляет собой отношение скорости фотосинтетической чистой продукции кислорода к скорости потребления его в процессе темнового дыхания. Этот показатель отражает состояние растения, обобщая характеристики

двух важнейших физиологических процессов – фотосинтеза и дыхания. Чем выше скорость фотосинтеза и меньше скорость потребления кислорода при темновом дыхании, тем лучше жизнедеятельность растения [1]. Установлено, что под действием неблагоприятных факторов среды обитания у растений часто происходит сдвиг в соотношении процессов дыхания и фотосинтеза в сторону увеличения процессов потребления O_2 и уменьшения его синтеза [3, 4, 14].

Прежде всего, мы хотели сравнить приживаемость микроклональных регенерантов карельской березы разных форм в ИОС «Триона» (рН 5,4) и почве из березняка (рН 5,8). Для этого в них были высажены регенеранты карельской березы 2а и 81 (короткоствольная форма) и 76 (высокоствольная форма), полученные из Института леса НАН Беларуси. Плотность посадки была 3х3 см в коробке, объем субстрата 2 л. Растения помещали под лампы ДНАЗ-400 (ФАР 3–8 Вт/м²), фотопериод 14 ч. Температура воздуха в помещении – +25–30°С, влажность воздуха 65–75 %.

Оказалось, что регенеранты всех клонов приживались лучше в почве из березняка (табл. 1).

Таблица 1. Приживаемость регенерантов разных форм карельской березы (*B. pendula* Roth, var. *carelica*) в ИОС «Триона» и почве из березняка

Клон <i>Betula pendula</i> Roth, var. <i>carelica</i>	Вариант	Отпад, %
76	почва	4,6
	«Триона»	26,2
81	почва	2,3
	«Триона»	34,5
2а	«Триона»	14,0
	почва	6,1

Но когда после адаптации в почве из березняка регенеранты были рассажены в почву из березняка и ИОС «Триона» (в возрасте 1,5 месяцев), то приживаемость в последнем была выше (табл. 2). Небольшой отпад наблюдали только у регенерантов высокоствольного клона 76. Возможно, объясняется это тем, что в ИОС лучше развивается корневая система регенерантов.

Таблица 2. Приживаемость адаптированных к нестерильным условиям регенерантов *B. pendula* Roth, var. *carelica* разных форм после пересадки в индивидуальные емкости для выращивания

Клон <i>Betula pendula</i> Roth, var. <i>carelica</i>	Вариант	Отпад, %
76	почва	76,2
	«Триона»	4,8
81	почва	38,1
	«Триона»	0,0
2а	«Триона»	0,0
	почва	42,9

Заметна была разница во внешнем виде регенерантов, адаптировавшихся на ИОС в осенний и весенний периоды (табл. 3). Весенние регенеранты опережали осенние по скорости роста, что связано с тем, что в зимний период они находились в состоянии относительного покоя: не росли в высоту, не образовывали новые листья, увеличивался только диаметр стволика и развивалась корневая система.

Так как, по литературным данным, березы предпочитают более кислые почвы [10], исследовали эффективность снижения рН субстрата на 2-й стадии адаптации – доращивании до параметров саженцев. Для этого адаптированные в ИОС при рН 5,5 регенеранты берез (через 1–1,5 месяца) переносили в индивидуальные горшки (емкостью 0,5 л) в ИОС с рН 4,8. Получили следующие результаты (табл. 4).

Очевидно, что смена субстрата на более кислый благоприятно сказывалась на физиологическом состоянии регенерантов берез, что выражалось в большей скорости роста и листообразования. Возможно, для ускорения получения из регенерантов саженцев, пригодных для высадки в открытый грунт, необходимо постепенное снижение рН субстрата.

Таблица 3. Биометрические показатели адаптированных регенерантов разных форм карельской березы к моменту пересадки в открытый грунт (осенние – в возрасте 10 месяцев, весенние – 76 и 81 – в возрасте 5 месяцев, 2а – 4 месяцев)

Показатель	Высокоствольная (76), время посадки		Короткоствольная (81), время посадки		Короткоствольная (2а), время посадки
	осень	весна	осень	весна	
1	2	3	4	5	6
Высота, см	34,2±2,83	55,6±2,18	39,9±1,93	48,8±2,34	54,9±2,68
Диаметр стволика, мм	6,3±0,33	5,7±0,18	6,8±0,24	5,8±0,15	5,4±0,13
Количество листьев, шт.	23±2,6	32±2,5	37±7,1	36±2,7	37±2,1
Количество боковых ветвей, шт.	2±0,5	3±0,8	9±1,3	5±0,6	4±0,7
Количество междоузлий, шт.	–	34±0,7	–	31±0,7	30±1,0
Вес корней, г	10,30±1,073	9,39±0,718	14,88±1,042	9,23±0,711	9,11±0,331
Вес листьев, г	6,02±0,328	8,67±0,400	5,80±0,37	8,84±0,516	7,73±0,396
Вес ствола, г	3,57±0,172	5,40±0,284	4,28±0,291	4,26±0,264	4,23±0,184
Вес веток, г	0,16±0,064	0,18±0,054	0,70±0,173	0,47±0,082	0,39±0,085
Вес целого растения, г	20,55±1,081	23,64±1,258	25,64±1,425	22,80±1,440	21,46±0,800
Доля корней, %	51,7±2,85	39,4±1,70	57,9±1,57	40,3±1,13	42,5±0,91
Доля листьев, %	29,7±1,35	36,9±1,19	22,8±1,69	39,0±0,96	36,0±0,95
Доля ствола, %	16,1±1,02	21,8±0,65	16,7±0,83	19,6±0,47	20,1±0,50
% сухого вещества, листья	28,8±0,66	30,4±1,32	27,6±0,37	25,8±3,34	28,6±0,62
% сухого вещества, корни	16,1±1,08	23,4±7,0	13,9±0,55	15,1±2,49	16,3±0,71
% сухого вещества, стембель	48,5±0,94	42,9±1,10	40,3±0,34	42,3±0,31	45,5±1,11

Таблица 4. Биометрические показатели саженцев карельской березы (клон 76) при выращивании на ионообменном субстрате разной кислотности (возраст 7 и 6 месяцев, соответственно)

Время адаптации к нестерильным условиям	pH субстрата	Высота, см	Количество листьев, шт.	Количество междоузлий, шт.	Боковые ветви 1-го порядка	Диаметр стволика, мм
Февраль-май	5,9	27,8±3,13	18±2,3	24±1,3	2±0,5	3,4±0,24
	4,8	41,9±2,02	21±1,1	28±1,0	1±0,2	4,4±0,21
Март-май	5,9	36,6±2,12	17±1,4	28±1,5	1±0,3	4,0±0,27
	4,8	46,4±1,83	24±1,4	31±1,2	1±0,3	4,2±0,12

Об удовлетворительном состоянии регенерантов при адаптации и выращивании на ИОС свидетельствуют и данные по скоростям фотосинтеза и темнового дыхания, а также по их соотношению (рис.).

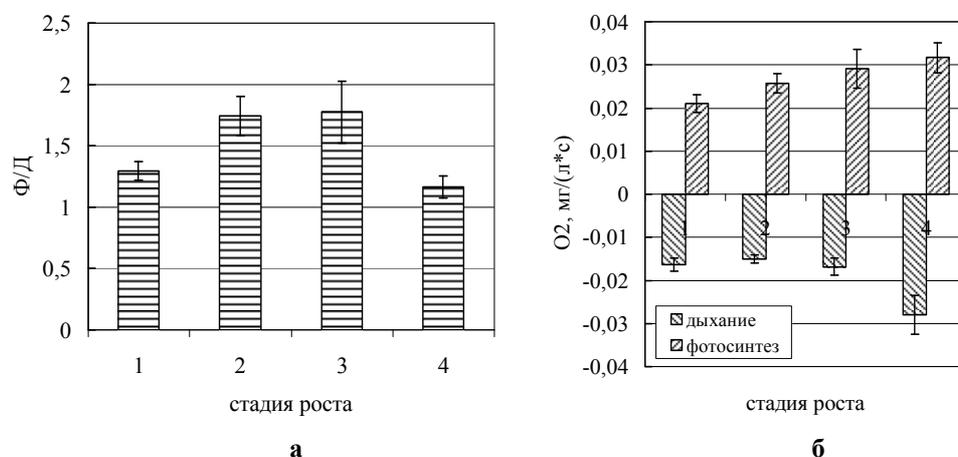


Рисунок. Фотосинтез и дыхание регенерантов карельской березы на разных стадиях адаптации и роста:

а – скорости дыхания и фотосинтеза, б – коэффициент фотосинтетической эффективности; 1 – адаптация, 2 – рост, 3 – пересадка в индивидуальные горшки, 4 – в теплице.

Скорость фотосинтеза в процессе адаптации и роста возрастала, в то время как затраты на темновое дыхание оставались неизменными, и только изменение режима выращивания (перемещение в теплицу) вызывало увеличение скорости фотосинтеза с одновременным увеличением скорости дыхания. Это перемещение не было благоприятным, о чем свидетельствует снижение отношения скорости фотосинтеза к дыханию. Какой из параметров условий выращивания (температура, влажность воздуха и субстрата, освещенность) оказался неблагоприятным (или их совокупность) предстоит еще выяснить.

Вышеизложенные результаты позволяют заключить, что ИОС являются пригодными для адаптации и выращивания микроклональных регенерантов карельской березы разных форм. Они позволяют круглогодично получать качественный посадочный материал для высадки в открытый грунт с высокой степенью приживаемости.

ЛИТЕРАТУРА

1. Акинъшина Н.Г., Азизов А.А., Карасева Т.А., Клозе Э. Новые возможности в оценке состояния растений // Сибирский экологич. Журн., 2008. № 2. С. 249–254.
2. Ветчинникова Л.В. Карельская береза и другие редкие представители рода *Betula* L.M.: Наука, 2005. 269 с.
3. Горышина Т.К. Фотосинтетический аппарат растений в условиях среды. Л.: ЛГУ, 1989. С. 152–158, 172–175.
4. Крамер П., Козловский Т. Физиология древесных растений. М.: Лесн. Пром-сть, 1983. 464 с.
5. Концевая И.И., Яцына А.А. Микроразмножение *Betula obscura kotula ex fiek* // Матер.междун. научн. конф «Молекулярная генетика, геномика и биотехнология». Мн., 2004.
6. Минералогическая энциклопедия / Под ред. К.Фрея. Л.: Недра, 1985. 512 с.
7. Обуховская Л.В., Макарова Т.Б., Олешук Е.Н. Особенности адаптации микроклональных *Betula pendula* Roth, var. *carelica* к условиям выращивания *in vivo* на оптимизированном ионообменном субстрате при посадке в разные сроки // Матер. V Междун. конф. «Регуляция роста, развития и продуктивности растений» Мн., ИООО «Право и экономика», 2007. С. 152.
8. Обуховская Л.В., Макарова Т.Б., Янчевская Т.Г. Адаптация микроклональных растений рода *Betula* к условиям выращивания *in vivo* на оптимизированном ионообменном субстрате // Матер.междун.научн.-практич.конф. «Рациональное использование и воспроизводство лесных ресурсов в системе устойчивого развития». Гомель: Институт леса НАН Беларуси, 2007. С. 286–289.
9. Патент на регистрацию товарного знака в Республике Беларусь «Триона». № 20041990 по сроку 18.08.2004.
10. Побирушко В.Ф. Эколого-биологические особенности и внутривидовая изменчивость некоторых видов рода *Betula* L. На границах ареалов (в условиях Беларуси) // Автореф.дис. ... канд.биол.наук. Минск, 1992.
11. Природные цеолиты / Под ред. А.Г.Коссовской. Л.: Наука, 1980. 223 с.
12. Солдатов В.С., Перышкина Н.Г., Хорошко Р.П. Ионитные почвы. Мн.: «Наука и техника», 1978. 272 с.
13. Способ круглогодичного получения мини-клубней картофеля в защищенном грунте. Патент Республики Беларусь, ВУ 5891 С1 от 30.03.2004 по заявке на изобретение № 19990611. Приоритетная справка от 18.06.1999.
14. Raghavendra A.S., Padmasree K., Saradadevi K. Interdependence of photosynthesis and respiration in plant cells: interactions between chloroplasts and mitochondria // Plant Science, 1994. Vol. 97. P. 1–14.
15. RU 2335119 C1, 07.05.2007

PRESENT VALUE AND PERSPECTIVE OF THE CURLY BIRCH GROWING IN SLOVAKIA

*Paganová V.*¹, *Pagan J.*²

¹ Department of Green's Biotechnics, Faculty of Horticulture and Landscape Engineering Slovak University of Agriculture in Nitra, Tulipánová 7, Nitra 949 76 Slovakia, tel: +421376415431 E-mail: viera.paganova@uniag.sk

² Tňie 50, 941 06 Slovakia

Abstract. In Slovakia curly birch belongs among rare woody plants. A detailed study of curly birch distribution and variability was done in 1981–1985. At present 330 the most valuable clones of the various growth forms are archived in the clone archive and in arboretum collection. Concentration of such large diversity of the growth forms and curly birch genotypes provides good conditions for basic research of