

Научная статья
УДК 630.232:581.165.7
EDN TMIGGW
DOI 10.24419/LHI.2304-3083.2023.4.09

Влияние условий стерилизации эксплантов и освещения на морфогенез хозяйственно ценных форм березы и осины в культуре *in vitro*

Сергей Сергеевич Макаров¹
доктор сельскохозяйственных наук

Михаил Тарьевич Упадышев²
доктор сельскохозяйственных наук,
член-корреспондент РАН

Ирина Борисовна Кузнецова³
кандидат сельскохозяйственных наук

Антон Игоревич Чудецкий⁴
кандидат сельскохозяйственных наук

Ольга Петровна Лебедева⁵
Евгений Сергеевич Багаев⁶
кандидат сельскохозяйственных наук

Николай Николаевич Журавлёв⁷

Аннотация. Проанализировано влияние режима стерилизации эксплантов и условий освещения при клональном микроразмножении хозяйственно ценных листовых пород на этапе введения в культуру *in vitro*. В качестве объектов исследований использовали экспланты *Betula neoalaskana*, *B. pendula* var. *carelica*, *B. ulmifolia*, *B. papyrifera* и *Populus tremula* (триплоидная и диплоидная формы). Наибольшая жизнеспособность неодревесневших эксплантов березы (45–55 %) в культуре *in vitro* наблюдалась при стерилизации: у *B. ulmifolia* и *B. papyrifera* – в растворе 96 %-го спирта (1 мин) и средства Хлорамин Б 5 % (10 мин), у *B. neoalaskana* – 96 %-го спирта (1 мин) и сулемы 0,01 % (3 мин), у *B. pendula* var. *carelica* – 96 %-го спирта (1 мин) и средства Белизна 5 % (15 мин). У эксплантов *P. tremula* триплоидной и диплоидной форм наибольшая жизнеспособность (85–90 %) отмечена при стерилизации раствором нитрата серебра 0,2 % (10 мин). Введенные в культуру *in vitro* экспланты исследуемых видов и форм древесных растений значительно отличались по реакции на освещение. Наибольшие значения количества и суммарной длины микропобегов у эксплантов всех исследуемых видов березы наблюдались при светодиодном освещении с чередованием белого, красного и синего спектра (5,2–5,7 шт. и 33,6–38,3 см соответственно), а у *P. tremula* – при использовании люминесцентных ламп белого света (5,1–6,0 шт. и 35,2–48,4 см соответственно).

Ключевые слова: береза, осина, клональное микроразмножение, *in vitro*, эксплант, жизнеспособность, стерилизующий агент, условия освещения, побегообразование.

Для цитирования: Макаров С.С., Упадышев М.Т., Кузнецова И.Б., Чудецкий А.И., Лебедева О.П., Багаев Е.С., Журавлев Н.Н. Влияние условий стерилизации эксплантов и освещения на морфогенез хозяйственно ценных форм березы и осины в культуре *in vitro*. – Текст : электронный // Лесохозяйственная информация. 2023. № 4. С. 92–102. DOI 10.24419/LHI.2304-3083.2023.4.09. <https://elibrary.ru/tmiggw>.

¹ Российский государственный аграрный университет – Московская сельскохозяйственная академия имени К.А. Тимирязева, заведующий кафедрой декоративного садоводства и газоноведения (Москва, Российская Федерация); Северный (Арктический) федеральный университет им. М.В. Ломоносова, профессор кафедры ландшафтной архитектуры и искусственных лесов (Архангельск, Российская Федерация), makarov_serg44@mail.ru

² Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, профессор кафедры биотехнологии (Москва, Российская Федерация), upad8@mail.ru

³ Костромская государственная сельскохозяйственная академия, доцент кафедры агрохимии, биологии и защиты растений (пос. Караваево, Костромской район, Костромская обл., Российская Федерация), sonnereiser@yandex.ru

⁴ Российский государственный аграрный университет – Московская сельскохозяйственная академия имени К.А. Тимирязева, доцент кафедры декоративного садоводства и газоноведения (Москва, Российская Федерация), a.chudetsky@mail.ru

⁵ Северный (Арктический) федеральный университет им. М.В. Ломоносова, учебный мастер лаборатории кафедры ландшафтной архитектуры и искусственных лесов «Дендрологический сад им. И.М. Стратоновича» (Архангельск, Российская Федерация), o.lebedeva@narfu.ru

⁶ Центрально-европейская лесная опытная станция, филиал Всероссийского научно-исследовательского института лесоводства и механизации лесного хозяйства, руководитель группы лесоводства (Кострома, Российская Федерация), ce-los-lh@mail.ru

⁷ Российский государственный аграрный университет – Московская сельскохозяйственная академия имени К.А. Тимирязева, лаборант кафедры декоративного садоводства и газоноведения (Москва, Российская Федерация), deksad@rgau-msha.ru

Original article

EDN TMIGGW

DOI 10.24419/LHI.2304-3083.2023.4.09

Influence of Explant Sterilization Conditions and Lighting on the Morphogenesis of Economically Valuable Forms of Birch and Aspen *in vitro* Culture

Sergey S. Makarov¹

Doctor of Agricultural Sciences

Mikhail T. Upadyshev²

*Doctor of Agricultural Sciences, Corresponding
Member of the Russian Academy of Sciences*

Irina B. Kuznetsova³

Candidate of Agricultural Sciences

Anton I. Chudetsky⁴

Candidate of Agricultural Sciences

Olga P. Lebedeva⁵

Evgeny S. Bagaev⁶

Candidate of Agricultural Sciences

Nikolay N. Zhuravlyov⁷

Abstract. The results of studies on the influence of the explant sterilization mode and lighting conditions during clonal micropropagation of economically valuable hardwoods at the stage of introduction in *in vitro* culture. Objects of study are explants of *Betula neoalaskana*, *B. pendula* var. *carelica*, *B. ulmifolia*, *B. papyrifera* and *Populus tremula* (triploid and diploid forms). Use the method of clonal micropropagation is necessary to preserve the gene pool and mass cultivation of rare and economically valuable species and its forms. Obtaining a primary antiseptic culture is one of the most time-consuming and important stages of clonal micropropagation of plants. The highest viability of non-lignified birch explants (45–55 %) in culture *in vitro* is observed during sterilization: *B. ulmifolia* and *B. papyrifera* – in a solution of ethanol 96 % (1 min) and Chloramine B 5 % (10 min), *B. neoalaskana* – ethanol 96 % (1 min) and copper sulfate 0.01 % (3 min), *B. pendula* var. *carelica* – ethanol 96 % (1 min) and Belizna 5 % (15 min). The highest viability of *P. tremula* explants of triploid and diploid forms (85–90 %) is noted during sterilization with a 0.2 % silver nitrate solution (10 min). Explants of the studied species and forms of woody plants introduced into *in vitro* culture differed significantly in its response to lighting. Explants of all studied species of birch in culture *in vitro* have highest values of the number and total length of microshoots when using LED lighting with alternating white, red and blue spectrum (5.2–5.7 pieces and 33.6–38.3 cm respectively), *P. tremula* – white light fluorescent lamps (5.1–6.0 pieces and 35.2–48.4 cm respectively).

Key words: birch, aspen, clonal micropropagation, *in vitro*, explant, lighting conditions, viability, sterilizing agent, light, shoot formation.

For citation: Makarov S., Upadyshev M., Kuznetsova I., Chudetsky A., Lebedeva O., Bagaev E., Zhuravlyov N. Influence of Explant Sterilization Conditions and Lighting on the Morphogenesis of Economically Valuable Forms of Birch and Aspen in *in vitro* culture. – Text : electronic // Forestry information. 2023. № 4. С. 92–102. DOI 10.24419/LHI.2304-3083.2023.4.09. <https://elibrary.ru/tmiggg>.

¹ Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy, Head of Decorative Gardening and Lawn Science Chair (Moscow, Russian Federation); Northern (Arctic) Federal University named after M.V. Lomonosov, Professor of the Landscape Architecture and Artificial Forests Chair (Arkhangelsk, Russian Federation), makarov_serg44@mail.ru

² Russian Timiryazev State Agrarian University, Professor of Biotechnology Chair (Moscow, Russian Federation), upad8@mail.ru

³ Kostroma State Agricultural Academy, Associate Professor of Agrochemistry, Biology and Plant Protection Chair (Karavaevo, Kostroma district, Kostroma region, Russian Federation), sonnereiser@yandex.ru

⁴ Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy, Associate Professor of Decorative Gardening and Lawn Science Chair (Moscow, Russian Federation), a.chudetsky@mail.ru

⁵ Northern (Arctic) Federal University named after M.V. Lomonosov, Head of the Landscape Architecture and Artificial Forests Chair (Arkhangelsk, Russian Federation), Educational Master of the Laboratory “Dendrological Garden named after I.M. Stratonovich” of the Landscape Architecture and Artificial Forests Chair (Arkhangelsk, Russian Federation), o.lebedeva@narfu.ru

⁶ Central European Forestry Experimental Station, Branch of the Russian Research Institute of Silviculture and Mechanization of Forestry, Head of Silviculture Group (Kostroma, Russian Federation), ce-los-lh@mail.ru

⁷ Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy, Laboratory Assistant of Decorative Gardening and Lawn Science Chair (Moscow, Russian Federation), deksad@rgau-msha.ru

Некотрые хозяйственно ценные и редкие древесные породы или их формы трудно размножаются традиционными способами. К ним относится, например, береза карельская (*Betula pendula* var. *carelica* Merckl.), которая отличается декоративностью ствола, узорчатой текстурой древесины, устойчивостью к воздействию неблагоприятных факторов окружающей среды и может быть использована в озеленении городов, ландшафтном дизайне и для сувенирного производства [1–6]. Исполинские формы осины с триплоидным набором хромосом (*Populus tremula* *gigas*), являющиеся только мужскими растениями, в отличие от обычных диплоидных форм характеризуются более быстрым ростом, высокой продуктивностью и устойчивостью к стволковой гнили и могут использоваться в производстве экологически чистых прессованных и композитных материалов, наноцеллюлозы, древесного биотоплива, сырья для пищевой, фармацевтической, парфюмерной промышленности и др. [7–11].

При искусственном лесовосстановлении основным исходным материалом являются семена лесных растений, количественные и качественные показатели которых зачастую нестабильны. В результате из-за низкой грунтовой всхожести семян затраты на получение посадочного материала возрастают. Для снижения затрат и получения качественного посадочного материала необходимо развивать альтернативные биотехнологические способы размножения растений. В лабораторных условиях можно осуществлять разведение редких видов с целью реинтродукции в природную среду для поддержания существующих, восстановления утраченных и создания новых популяций *in situ* (в типичных условиях произрастания) [12–15].

Одним из самых трудоемких этапов при клональном микроразмножении растений является получение первичной антисептической культуры. На данном этапе наиболее часто происходит заражение грибными болезнями, а при тиражировании возрастает риск проявления бактериальной инфекции. В связи с этим перед введением эксплантов растений в культуру *in vitro* необходимо выдерживать их в стерилизующих растворах с последующим многократным промыванием

стерильной водой. При использовании молодых побегов в качестве эксплантов особое внимание уделяют «мягким» антисептическим растворам, тогда как употребление хлор- и ртутьсодержащих растворов, которые проникают сквозь чешуйки, покрывающие почки, часто приводит к гибели эксплантов (некрозу), поэтому их можно применять только при условии снижения концентрации и времени выдержки [15–19].

В настоящее время все большее применение в качестве стерилизующих агентов находят современные дезинфицирующие препараты и моющие средства. Известно о положительных результатах обработки эксплантов этими стерилизующими веществами различных видов берез и тополей [20–22]. Однако до сих пор не изучено влияние стерилизации эксплантов осины нитратом серебра, современными дезинфицирующими средствами Ника-2 и Лизоформин 3000, а также некоторых видов березы (новоалаякская, бумажная, карельская, ильмолистная) – средством Хлорамин Б при введении в культуру *in vitro*. Кроме того, не проводятся исследования по использованию светодиодного освещения с комбинацией различных спектров при клональном микроразмножении этих видов.

Цель исследований – определить наиболее эффективные режимы стерилизации эксплантов с использованием современных дезинфицирующих средств и условия светодиодного освещения при введении различных видов и форм березы и осины в культуру *in vitro*.

Объекты и методы исследований

Исследования проводили на базе САФУ им. М.В. Ломоносова и Центрально-европейской лесной опытной станции ВНИИЛМ в 2021–2023 гг. с использованием общепринятых методик по клональному микроразмножению растений [11, 15]. В качестве исходного растительного материала для введения в культуру *in vitro* применяли:

- ✓ зеленые пазушные почки побегов текущего года березы карельской (*Betula pendula*

var. carelica (Merckl.) Hämet-Ahti), березы ильмолистной (*B. ulmifolia* Sieb. et Zucc.), березы новоаяласской (*B. neoalaskana* Sarg.), березы бумажной (*B. papyrifera* Marshall), отобранные с экземпляров коллекции Дендрологического сада им. И.М. Стратоновича (Архангельск);

- ✓ пазушные почки с одревесневших побегов осины (*Populus tremula* L.) триплоидной (клоны № 27 и 35) и диплоидной (клон № 29 – контроль) форм, отобранные в генетическом резервате Костромской обл. (Шарьинский район).

Перед введением эксплантов в культуру *in vitro* исходные фрагменты растений предварительно промывали в мыльном растворе и под проточной водой. Дальнейшие манипуляции проводили в боксе микробиологической безопасности ВА-Safe 120. Промытые экспланты помещали на 1 мин в 96 %-й раствор этилового спирта, а затем в основной стерилизующий агент. После выдержки растительных объектов в стерилизующем агенте их тщательно промывали путем многократного ополаскивания при 5–7-кратной смене стерильной воды. Для обработки эксплантов исследуемых видов березы применяли растворы следующих стерилизующих веществ: Белизна (5 %) и Хлорамин Б (5 %) при времени выдержки 10 мин; сулема (0,1 %) – при экспозиции 3 мин. Экспланты осины обрабатывали растворами гипохлорита натрия (5 %), пергидроля (10 %), сулемы (0,2 %), нитрата серебра (0,2 %), дезинфицирующих средств Ника-2 (0,01 %) и Лизоформин 3000 (5 %); время экспозиции – 3, 5, 10, 15 и 20 мин для каждого вещества. Выбор концентраций стерилизующих агентов обусловлен результатами собственных предварительных исследований на других культурах [23, 24]. Затем экспланты промывали стерильной водой 3–5 раз по 15 мин.

На этапе введения в культуру *in vitro* определяли жизнеспособность эксплантов как отношение числа выживших к числу введенных в культуру; для березы, кроме того, учитывали количество стерильных (неинфицированных) эксплантов. Повторность опытов – 3-кратная.

Введение эксплантов в культуру и последующие пассажи (пересадки) растений проводили в ламинарных боксах. Экспланты помещали на питательные среды (для березы – Woody Plant Medium, WPM; для осины – Мурасиге-Скуга, MS 1/2) и культивировали в условиях световой комнаты на установках для роста растений – фитостеллажах Vitro-life (светодиодное освещение – биколор – с возможностью регулировки интенсивности яркости, диапазон длин волн – 440...660 нм) при 16-часовом фотопериоде, температуре воздуха 20...22 °С, относительной влажности воздуха 70...75 %. Учитывали количество и длину микропобегов *in vitro* в зависимости от применения люминесцентной лампы белого света (ЛБ – контроль), светодиодной лампы белого света (СД-Б) и лампы с сочетанием трех видов светодиодов (белый, красный, синий – СД-Б+К+С). Оценку достоверности опыта проводили с помощью наименьшей существенной разности на 5 %-м уровне значимости ($HC_{P_{05}}$) и двухфакторного дисперсионного анализа (фактор А – вид (форма) древесной породы; фактор В – тип освещения).

Результаты и обсуждение

Эффективность стерилизации эксплантов березы зависела от видовых особенностей, стерилизующего раствора и экспозиции. В целом экспланты березы характеризовались высокой зараженностью сапрофитной микрофлорой – от 54 до 90 % и, соответственно, относительно низким выходом стерильных эксплантов – от 10 до 46 % (табл. 1). Самое низкое число инфицированных эксплантов было у березы бумажной (в среднем по 4-м стерилизующим растворам – 61 %), у остальных видов березы инфицированность варьировала в среднем от 69 до 72,3 %.

Инфицированность эксплантов березы новоаяласской практически не зависела от вида стерилизующего раствора и варьировала в незначительных пределах (70–73 %). У березы карельской минимальная инфицированность отмечена в варианте спирт + Белизна (10 мин),

ТАБЛИЦА 1. РЕЗУЛЬТАТЫ СТЕРИЛИЗАЦИИ ЭКСПЛАНТОВ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ БЕРЕЗЫ В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

Вид	РЕЖИМ СТЕРИЛИЗАЦИИ	ВЫХОД СТЕРИЛЬНЫХ ЭКСПЛАНТОВ, %	ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ ЭКСПЛАНТОВ, %
Береза новоалаякская	Спирт 96 % (1 мин) + Белизна 5 % (10 мин)	30	37
	Спирт 96 % (1 мин) + Белизна 5 % (15 мин)	28	47
	Спирт 96 % (1 мин) + Хлорамин Б 5 % (10 мин)	27	48
	Спирт 96 % (1 мин) + сулема 0,1 % (3 мин)	30	50
Береза карельская	Спирт 96 % (1 мин) + Белизна 5 % (10 мин)	46	34
	Спирт 96 % (1 мин) + Белизна 5 % (15 мин)	18	45
	Спирт 96 % (1 мин) + Хлорамин Б 5 % (10 мин)	10	0
	Спирт 96 % (1 мин) + сулема 0,1 % (3 мин)	37	0
Береза ильмолистная	Спирт 96 % (1 мин) + Белизна 5 % (10 мин)	20	28
	Спирт 96 % (1 мин) + Белизна 5 % (15 мин)	25	47
	Спирт 96 % (1 мин) + Хлорамин Б 5 % (10 мин)	38	52
	Спирт 96 % (1 мин) + сулема 0,1 % (3 мин)	41	48
Береза бумажная	Спирт 96 % (1 мин) + Белизна 5 % (10 мин)	39	45
	Спирт 96 % (1 мин) + Белизна 5 % (15 мин)	35	35
	Спирт 96 % (1 мин) + Хлорамин Б 5 % (10 мин)	42	55
	Спирт 96 % (1 мин) + сулема 0,1 % (3 мин)	40	49

максимальная – в варианте спирт + Хлорамин Б. Наименьшее число инфицированных эксплантов березы ильмолистной наблюдалось при применении спирта и сулемы, а у березы бумажной – спирта и Хлорамина Б.

У берез новоалаякской, ильмолистной и бумажной доля эксплантов с некрозами тканей, вызванными токсичным действием стерилизующих растворов, составляла 54,0–56,3 %. У березы карельской число эксплантов с некрозами достигло 80,3 %, а в вариантах спирт + Хлорамин и спирт + сулема погибли все экспланты. Вследствие этого береза карельская в среднем характеризовалась в 2,2–2,3 раза более низким выходом жизнеспособных эксплантов (19,8 %) по сравнению с другими видами березы (43,7–46,0 %).

Наибольшее число некрозов отмечено у эксплантов березы карельской после стерилизации с применением спирта + Белизны (15 мин), березы ильмолистной и березы бумажной – спирта + Хлорамина Б. У березы новоалаякской 3 варианта режима стерилизации не отличались по доле некрозов (50–53 %), а в варианте спирт + Белизна (10 мин) она увеличилась до 63 %.

Наибольший выход жизнеспособных эксплантов отмечен у березы ильмолистной и березы бумажной в варианте спирт + Хлорамин Б (10 мин) (52 и 55 % соответственно), у березы карельской – в варианте спирт + Белизна (15 мин) (45 %), березы новоалаякской – спирт + сулема (3 мин) (50 %).

На этапе введения в культуру *in vitro* эксплантов осины наиболее эффективным стерилизующим агентом оказался нитрат серебра 0,2 %-й, при экспозиции 10 мин жизнеспособность эксплантов составляла 90 % (табл. 2). При обработке препаратами Ника-2 (0,01 %) и Лизоформин 3000 (5 %) в той же экспозиции жизнеспособность была в 1,8–3,6 раза меньше. Самые низкие ее значения (не более 42 %) отмечены во всех вариантах экспозиции при обработке растворами гипохлорита натрия (5 %), пергидроля (10 %), сулемы (0,2 %). В зависимости от клона и формы осины существенно значимых различий по жизнеспособности не отмечено.

Установлено, что реакция исследуемых эксплантов на свет в культуре *in vitro* зависела от рода растения и типа освещения (табл. 3).

ТАБЛИЦА 2. ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ ЭКСПЛАНТОВ ОСИНЫ В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO* В ЗАВИСИМОСТИ ОТ РЕЖИМА СТЕРИЛИЗАЦИИ, %

Клон, форма	Стерилизующий агент	Жизнеспособность эксплантов, %, при времени экспозиции, мин				
		3	5	10	15	20
№ 27, триплоидная	Гипохлорит натрия 5 %	2	7	11	9	7
	Пергидроль 10 %	3	12	14	27	30
	Сулема 0,2 %	16	23	30	81	16
	AgNO ₃ 0,2 %	3	5	90	33	4
	Ника-2 0,01 %	10	17	30	42	32
	Лизоформин 3000 5 %	13	16	48	64	77
№ 35, триплоидная	Гипохлорит натрия 5 %	3	9	13	10	7
	Пергидроль 10 %	2	12	15	29	30
	Сулема 0,2 %	16	23	30	78	16
	AgNO ₃ 0,2 %	3	6	88	34	5
	Ника-2 0,01 %	11	18	32	40	30
	Лизоформин 3000 5 %	12	16	50	62	76
№ 29, диплоидная	Гипохлорит натрия 5 %	1	6	10	9	6
	Пергидроль 10 %	4	12	13	26	28
	Сулема 0,2 %	16	23	30	80	16
	AgNO ₃ 0,2 %	4	7	85	31	6
	Ника-2 0,01 %	10	15	28	44	35
	Лизоформин 3000 5 %	15	18	45	65	78

У эксплантов триплоидной осины наибольшее количество микропобегов (в среднем 5,7 шт.) формировалось при освещении люминесцентной лампой белого света (контроль). Применение светодиодов белого света или лампы с сочетанием трех видов светодиодов (белый, красный, синий) приводило к снижению количества микропобегов по сравнению с контролем в 1,7 и 1,3 раза соответственно. При этом существенные различия по количеству микропобегов между тремя изученными клонами осины отсутствовали (см. табл. 3).

В отличие от осины, у растений березы разных видов наибольшее количество микропобегов формировалось при использовании светодиодной лампы со спектром в белой, красной и синей областях – в среднем 5,6 шт., что в среднем в 1,9 раза выше по сравнению с применением светодиода только с белым светом (см. табл. 3). Освещение люминесцентной лампой белого света способствовало увеличению числа микропобегов

у эксплантов березы в 1,4 раза по сравнению с применением светодиодов с белым светом, а также улучшению пролиферативной способности. Существенных различий между четырьмя исследуемыми видами березы по количеству микропобегов не отмечено.

Наибольшая суммарная длина микропобегов у осины (в среднем 42,3 см), как и их количество, отмечены при использовании люминесцентной лампы белого света (табл. 4). Свет, индуцируемый светодиодами в белой, красной и синей областях, существенно ингибировал рост побегов эксплантов осины: их суммарная длина была в 3,9 раза меньше, чем в контроле. Светодиоды с белым светом также оказались малоэффективны в отношении стимуляции ростовых процессов у осины.

У эксплантов изученных видов березы в культуре *in vitro* микропобеги наибольшей длины формировались при культивировании под светодиодами со спектром в белой, красной и синей областях: их суммарная длина была в 2 раза

Таблица 3. Количество микропобегов осины и березы в культуре *in vitro* в зависимости от типа освещения, шт.

Клон / вид	Освещение			Среднее
	СД-Б	СД-Б+К+С	ЛБ (контроль)	
Осина				
Клон № 27	3,6	4,2	5,1	4,3
Клон № 29	3,2	4,8	5,9	4,6
Клон № 35	3,0	4,2	6,0	4,5
Среднее	3,3	4,4	5,7	-
НСР ₀₅ фактор А $F_{ф} < F_{05}$, фактор В = 1,22, общ. = 1,30				
Береза				
Береза новооляская	2,8	5,2	4,0	4,0
Береза карельская	3,0	5,7	4,3	4,3
Береза ильмолистная	3,2	5,4	3,9	4,1
Береза бумажная	2,4	5,6	3,7	3,9
Среднее	2,9	5,6	4,0	-
НСР ₀₅ фактор А $F_{ф} < F_{05}$, фактор В = 1,09, общ. = 1,10				

Таблица 4. Суммарная длина микропобегов осины и березы в культуре *in vitro* в зависимости от типа освещения, см

Клон / вид	Освещение			Среднее
	СД-Б	СД-Б+К+С	ЛБ (контроль)	
Осина				
Клон № 27	15,6	10,9	35,2	20,6
Клон № 29	19,7	10,1	48,4	26,1
Клон № 35	13,8	10,9	43,3	22,7
Среднее	16,4	10,9	42,3	-
НСР ₀₅ фактор А = 2,17, фактор В = 2,32, общ. = 2,24				
Береза				
Береза новооляская	10,7	34,8	19,2	21,6
Береза карельская	12,6	35,9	19,4	22,6
Береза ильмолистная	14,7	38,3	16,0	23,0
Береза бумажная	11,8	33,6	17,4	20,9
Среднее	12,4	35,6	18,0	-
НСР ₀₅ фактор А $F_{ф} < F_{05}$, фактор В = 2,76, общ. = 2,53				

выше по сравнению с аналогичным показателем при применении люминесцентной лампы и в 2,9 раза выше, чем при использовании светодиодов белого спектра (см. табл. 4). Значимые различия между видами березы по суммарной длине микропобегов не установлены.

Наибольшее значение средней длины микропобегов у эксплантов осины в культуре *in vitro* отмечено при использовании люминесцентной лампы белого света, у березы – светодиодов со спектром в белой, красной и синей областях (табл. 5).

ТАБЛИЦА 5. Средняя длина микропобегов осины и березы в культуре *in vitro* в зависимости от типа освещения, см

Клон / вид	ОСВЕЩЕНИЕ			СРЕДНЕЕ
	СД-Б	СД-Б+К+С	ЛБ (КОНТРОЛЬ)	
Осина				
Клон № 27	4,2	2,6	6,9	4,6
Клон № 29	6,1	2,1	8,2	5,5
Клон № 35	4,6	2,6	7,2	4,8
Среднее	5,0	2,4	7,4	-
НСР ₀₅ фактор А Fф < F ₀₅ , фактор В = 1,17, общ. = 1,29				
Береза				
Береза новоаяльская	3,8	6,7	4,8	5,1
Береза карельская	4,2	6,3	4,5	5,0
Береза ильмолистная	4,6	7,1	4,1	5,3
Береза бумажная	4,9	6,0	4,7	5,2
Среднее	4,4	6,5	4,5	-
НСР ₀₅ фактор А Fф < F ₀₅ , фактор В = 1,29, общ. = 1,18				

Выводы

Таким образом, на этапе введения в культуру *in vitro* наибольшая жизнеспособность недревесневших эксплантов березы ильмолистной и березы бумажной наблюдалась при их стерилизации в растворе спирта (96 %) в течение 1 мин и средства Хлорамин Б (5 %) в течение 10 мин; у березы новоаяльской – при использовании раствора сулемы (0,01 %) в течение 3 мин; у березы карельской – средства Белизна (5 %) в течение

15 мин. Для эксплантов осины триплоидной и диплоидной форм наиболее эффективным стерилизующим агентом оказался нитрат серебра (0,2 %) при экспозиции 10 мин.

Введенные в культуру *in vitro* экспланты исследуемых древесных видов и форм значительно отличались по реакции на свет: для осины предпочтительней оказалось культивирование с использованием стандартных люминесцентных ламп, для березы – светодиодного светильника со спектром в белой, красной и синей областях.

Список источников

1. Яблоков, А.С. Возможности промышленного разведения карельской березы / А.С. Яблоков // Лесохозяйственная информация. – 1969. – № 8. – С. 12–13.
2. Методические указания по селекции и разведению карельской березы в лесах Нечерноземной зоны РСФСР / сост. С.Н. Багаев. – Москва : ВНИИЛМ, 1977. – 18 с.
3. Любавская, А.Я. Карельская береза / А.Я. Любавская. – Москва : Лесная промышленность, 1978. – 157 с.
4. Ветчинникова, Л.В. Карельская береза и другие редкие представители рода *Betula* L. / Л.В. Ветчинникова : Институт леса Карельского научного центра РАН. – Москва : Наука, 2005. – 269 с.
5. Береза карельская в Центральной России: биологические особенности и перспективы воспроизводства : монография. – Текст : электронный / Е.С. Багаев, С.С. Макаров, С.С. Багаев, А.И. Чудецкий. – Пушкино : ВНИИЛМ, 2022. – 125 с. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM).
6. Багаев, Е.С. Проблемы сохранения и воспроизводства березы карельской в Центральной России. – Текст : электронный / Е.С. Багаев, А.И. Чудецкий // Лесохозяйственная информация. – 2022. – № 3. – С. 5–17. DOI 10.24419/LHI.2304-3083.2022.3.01. – Режим доступа: URL: <http://lhi.vniilm.ru>.
7. Яблоков, А.С. Воспитание и разведение здоровой осины / А.С. Яблоков. – Москва : Гослесбумиздат, 1963. – 441 с.
8. Жигунов, А.В. Лесные плантации триплоидной осины, созданные посадочным материалом *in vitro* / А.В. Жигунов, Д.А. Шабунин, О.Ю. Бутенко // Вестник ПГТУ. – 2014. – № 4 (24). – С. 21–30.
9. Исполинская осина: биологические особенности и перспективы плантационного выращивания : монография / Е.С. Багаев, С.С. Макаров, С.С. Багаев, С.А. Родин. – Пушкино : ВНИИЛМ, 2021. – 72 с.
10. Багаев, Е.С. Оценка возможности использования быстрорастущих форм осины для закладки лесосырьевых плантаций с коротким оборотом рубки. – Текст : электронный / Е.С. Багаев, А.И. Чудецкий, С.С. Макаров // Лесохозяйственная информация. – 2023. – № 1. – С. 55–67. DOI 10.24419/LHI.2304-3083.2023.1.05. – Режим доступа: URL: <http://lhi.vniilm.ru>.
11. Features of Triploid Aspen Clonal Micropropagation Using Modern Growth-Stimulating Preparations / S.S. Makarov, E.S. Bagaev, A.I. Chudetsky [et al.] // Lesnoy Zhurnal. – 2023. – № 2. – P. 183–194. DOI: 10.37482/0536-1036-2023-2-183-194.
12. Высоцкий, В.А. Морфогенез и клональное микроразмножение растений / В.А. Высоцкий // Культура клеток растений и биотехнология. – Москва, 1986. – С. 91–102.
13. Бутенко, Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе / Р.Г. Бутенко. – Москва : ФБК-Пресс, 1999. – 160 с.
14. Вечернина, Н.А. Методы биотехнологии в селекции, размножении и сохранении генофонда растений : монография / Н.А. Вечернина. – Барнаул, 2004. – 205 с.
15. Сельскохозяйственная биотехнология и биоинженерия : учебник / В.С. Шевелуха, Е.А. Калашникова, Е.З. Кочиева [и др.]; под общ. ред. В.С. Шевелухи. – Москва : URSS, 2015. – 715 с.
16. Бутенко, Р.Г. Культура изолированных тканей в физиологии морфогенеза растений / Р.Г. Бутенко. – Москва : Наука, 1964. – 272 с.
17. Калинин, Ф.Л. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений / Ф.Л. Калинин, В.В. Сарнацкая, В.Е. Полищук. – Киев : Наукова думка, 1980. – 320 с.
18. Chalupa, V. Rychlé vegetativní množení některých listnatých lecních dřevin *in vitro* / V. Chalupa // Lesnictví. – 1983. – Sv. 29. – № 4. – S. 309–320.
19. Rutledge, G.B. Culture of Meristeme Tips and Micropropagation of 12 Commercial of *Populus in vitro* / G.B. Rutledge, G.G. Douglas // Physiol. Plant. – 1988. – Vol. 72. – № 2. – P. 367–373.

20. Зонтиков, Д.Н. Факторы, влияющие на морфогенез триплоидной осины в культуре *in vitro* / Д.Н. Зонтиков // Вестник КГУ им. Н.А. Некрасова. – 2012. – № 1. – С. 8–10.
21. Патент № RU2675510С2 Российская Федерация, МПК А01Н 4/00(2006.01). Способ поверхностной стерилизации эксплантов осины *in vitro* № 2017119631 : заявл. 2017.06.05 : опубл. 2018.12.06 / Е.А. Шабанова, О.С. Машкина ; заявитель ФГБУ «ВНИИЛГИСбиотех».
22. Патент № RU2780830С1т Российская Федерация. СПК А01Н 4/00 (2022.08). Способ стерилизации эксплантов березы *in vitro* с использованием наночастиц оксида меди № 2022104921 : заявл. 24.02.2022 : опубл. : 04.10.2022 Бюл. № 28// – 04.10.2022. – Бюл. № 28 / Т.А. Гродецкая, П.М. Евлаков, О.А. Федорова [и др.] ; заявитель Воронежский государственный лесотехнический университет имени Г.Ф. Морозова.
23. Макаров, С.С. Научно-методическое обоснование технологии размножения и плантационного выращивания лесных ягодных растений : автореф. дисс. ... д-ра с.-х. наук / С.С. Макаров. – Пушкино, 2022. – 40 с.
24. Чудецкий, А.И. Методические рекомендации по выращиванию посадочного материала брусники и красники *in vitro* и *ex vitro*. – Текст : электронный / А.И. Чудецкий, С.С. Макаров, С.А. Родин. – Пушкино : ВНИИЛМ, 2022. – 20 с. – 1 электрон. опт. диск (CD-R).

References

1. Yablokov, A.S. Vozmozhnosti promyshlennogo razvedeniya karel'skoj berezy / A.S. Yablokov // Lesohozyajstvennaya informatsiya. – 1969. – № 8. – С. 12–13.
2. Metodicheskie ukazaniya po selektsii i razvedeniyu karel'skoj berezy v lesah Nechernozemnoj zony RSFSR / sost. S.N. Bagaev. – Moskva : VNIILM, 1977. – 18 s.
3. Lyubavskaya, A.Ya. Karel'skaya bereza / A.Ya. Lyubavskaya. – Moskva : Lesnaya promyshlennost', 1978. – 157 s.
4. Vetchinnikova, L.V. Karel'skaya bereza i drugie redkie predstaviteli roda Betula L. / L.B. Vetchinnikova : Institut lesa Karel'skogo nauchnogo centra RAN. – Moskva : Nauka, 2005. – 269 s.
5. Bereza karel'skaya v Central'noj Rossii: biologicheskie osobennosti i perspektivy vosproizvodstva : monografiya. – Tekst : elektronnyj / E.S. Bagaev, S.S. Makarov, S.S. Bagaev, A.I. Chudeckij. – Pushkino : VNIILM, 2022. – 125 c. – 1 elektron. opt. disk (CD-ROM).
6. Bagaev, E.S. Problemy sohraneniya i vosproizvodstva berezy karel'skoj v Central'noj Rossii. – Tekst : elektronnyj / E.S. Bagaev, A.I. Chudeckij // Lesohozyajstvennaya informatsiya. – 2022. – № 3. – С. 5–17. DOI 10.24419/LHI.2304-3083.2022.3.01. – Rezhim dostupa: URL: <http://lhi.vniilm.ru>.
7. Yablokov, A.S. Vospitanie i razvedenie zdorovoj osiny / A.S. Yablokov. – Moskva : Goslesbumizdat, 1963. – 441 s.
8. Zhigunov, A.V. Lesnye plantatsii triploidnoj osiny, sozdannye posadochnym materialom *in vitro* / A.V. Zhigunov, D.A. Shabunin, O.Yu. Butenko // Vestnik PGU. – 2014. – № 4 (24). – С. 21–30.
9. Ispolinskaya osina: biologicheskie osobennosti i perspektivy plantacionnogo vyrashchivaniya : monografiya / E.S. Bagaev, S.S. Makarov, S.S. Bagaev, S.A. Rodin. – Pushkino : VNIILM, 2021. – 72 s.
10. Bagaev, E.S. Ocenka vozmozhnosti ispol'zovaniya bystrorastushchih form osiny dlya zakladki lesosyr'evyh plantatsij s korotkim oborotom rubki. – Tekst : elektronnyj / E.S. Bagaev, A.I. Chudeckij, S.S. Makarov // Lesohozyajstvennaya informatsiya. – 2023. – № 1. – С. 55–67. DOI 10.24419/LHI.2304-3083.2023.1.05. – Rezhim dostupa: URL: <http://lhi.vniilm.ru>.
11. Features of Triploid Aspen Clonal Micropropagation Using Modern Growth-Stimulating Preparations / S.S. Makarov, E.S. Bagaev, A.I. Chudetsky [et al.] // Lesnoy Zhurnal [Russian Forestry Journal]. – 2023. – № 2. – P. 183–194. DOI: 10.37482/0536-1036-2023-2-183-194.
12. Vysockij, V.A. Morfogenez i klonal'noe mikrorazmnozhenie rastenij / V.A. Vysockij // Kul'tura kletok rastenij i biotekhnologiya. – Moskva, 1986. – С. 91–102.

13. Butenko, R.G. *Biologiya kletok vysshih rastenij in vitro i biotekhnologii na ih osnove* / R.G. Butenko. – Moskva : FBK-Press, 1999. – 160 s.
14. Vechernina, N.A. *Metody biotekhnologii v selekcii, razmnozhenii i sohranении genofonda rastenij : monografiya* / N.A. Vechernina. – Barnaul, 2004. – 205 s.
15. *Sel'skohozyajstvennaya biotekhnologiya i bioinzheneriya : uchebnik* / V.S. Sheveluha, E.A. Kalashnikova, E.Z. Kochieva [i dr.]; pod obshch. red. V.S. Sheveluhi. – Moskva : URSS, 2015. – 715 s.
16. Butenko, R.G. *Kul'tura izolirovannyh tkanej v fiziologii morfogeneza rastenij* / R.G. Butenko. – Moskva : Nauka, 1964. – 272 s.
17. Kalinin, F.L. *Metody kul'tury tkanej v fiziologii i biohimii rastenij* / F.L. Kalinin, V.V. Sarnackaya, V.E. Polishchuk. – Kiev : Naukova dumka, 1980. – 320 s.
18. Chalupa, V. *Rychlé vegetativni množeni nekterych listnatych lecnich drevin in vitro* / V. Chalupa // *Lesnictvi*. – 1983. – Sv. 29. – № 4. – S. 309–320.
19. Rutledg, G.B. *Culture of Meristeme Tips and Micropropagation of 12 Commercial of Populus in vitro* / G.B. Rutledg, G.G. Douglas // *Physiol. Plant.* – 1988. – Vol. 72. – № 2. – P. 367–373.
20. Zontikov, D.N. *Faktory, vliyayushchie na morfogenez triploidnoj osiny v kul'ture in vitro* / D.N. Zontikov // *Vestnik KGU im. N.A. Nekrasova*. – 2012. – № 1. – S. 8–10.
21. Patent № RU2675510S2 Rossijskaya Federaciya, MPK A01H 4/00(2006.01). *Sposob poverhnostnoj sterilizacii eksplantov osiny in vitro № 2017119631 : zayavl. 2017.06.05 : opubl. 2018.12.06 / E.A. Shabanova, O.S. Mashkina ; zayavitel' FGBU "VNIILGISbiotekh"*.
22. Patent № RU2780830C1t Rossijskaya Federaciya. SPK A01H 4/00 (2022.08). *Sposob sterilizacii eksplantov berezy in vitro s ispol'zovaniem nanochastic oksida medi № 2022104921 : zayavl. 24.02.2022 : opubl. : 04.10.2022* Byul. № 28 // – 04.10.2022. – Byul. № 28 / T.A. Grodeckaya, P.M. Evlakov, O.A. Fedorova [i dr.] ; zayavitel' Voronezhskij gosudarstvennyj lesotekhnicheskij universitet imeni G.F. Morozova.
23. Makarov, S.S. *Nauchno-metodicheskoe obosnovanie tekhnologii razmnozheniya i plantacionnogo vyrashchivaniya lesnyh yagodnyh rastenij : avtoref. diss. ... d-ra s.-h. nauk / S.S. Makarov. – Pushkino, 2022. – 40 s.*
24. Chudeckij, A.I. *Metodicheskie rekomendacii po vyrashchivaniyu posadochnogo materiala brusniki i krasniki in vitro i ex vitro. – Tekst : elektronnyj / A.I. Chudeckij, S.S. Makarov, S.A. Rodin. – Pushkino : VNIILM, 2022. – 20 s. – 1 elektron. opt. disk (CD-R).*