

УДК 630 165.6: 631.147(075.8)

**ПРАКТИЧЕСКОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОТЕХНОЛОГИИ В ЛЕСНОМ ХОЗЯЙСТВЕ ЦЧР**

**А.И. Сиволапов<sup>1</sup>, В.А. Сиволапов<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Воронежский государственный лесотехнический университет им. Г.Ф. Морозова, Воронеж, Россия

<sup>2</sup> Филиал ФБУ «Рослесозащита» «ЦЗЛ Воронежской области, Воронеж, Россия

В лесном хозяйстве Центрально-Черноземного района находят практическое применение следующие направления биотехнологии:

1. Применение биотехнологий для плантационного лесовыращивания. Клональное микроразмножение, как один из путей биотехнологии, позволяет за короткий срок получать большое количество генетически однородного посадочного материала, значительно ускоряя селекционный процесс, сокращая сроки получения товарной продукции новых сортов до 2–3 лет вместо 10–12. Кроме того, чрезвычайно важно, что при этом методе размножения происходит освобождение растений от патогенных микроорганизмов и во многих случаях от вирусов, т. е. происходит оздоровление посадочного материала. Методом тканевых культур удастся размножить растения, которые не плодоносят и с трудом или совсем не размножаются вегетативно [6 и др.].

В Воронежской и Липецкой области заложены опыты плантационных культур березы, ольхи и тополя регенерантами *in vitro*. Плантационные культуры с коротким периодом ротации также используют на получение мелкотоварной древесины для целей прессования, в связи с высокой эффективностью ее использования. За культурами ведутся ежегодные наблюдения [1–4, 6, 7].

Влияние происхождения посадочного материала на интенсивность роста опытных культур, созданных сеянцами и регенерантами *in vitro* показано ниже. Результаты инвентаризации 2018 года обработаны однофакторным дисперсионным анализом (таблица 1).



Рисунок 1 – Культуры березы повислой, созданные регенерантами *in vitro* и сеянцами

Таблица 1 – Итоговая таблица однофакторного дисперсионного анализа роста культур березы по диаметру, созданных сеянцами и регенерантами *in vitro*

Источники вариации	Степени свободы	Сумма квадратов отклонений	Средний Квадрат ( $\sigma^2$ )	$F_{\phi}$	$F_{st}$	
					P = 0,05	P = 0,01
Межгрупповая	1	82,36	82,36	9,66	3,9	6,9
Внутригрупповая	112	955,6	8,53			
Общая	113	1038,0	–			

Дисперсионный анализ влияния фактора происхождения посадочного материала на интенсивность роста по диаметру показал достоверность результатов. Нулевая гипотеза отвергается с вероятностью ( $P = 0,99$ ) в отношении влияния происхождения посадочного материала на рост по диаметру регенерантов и сеянцев. В 22 года средний диаметр на высоте 1,3 м у регенерантов больше на 3,6 см. Поскольку  $F_{\phi} > F_{st}$  в достоверности найденных показателей сомневаться не приходится. Сила влияния изучаемого фактора не высокая  $\eta^2 = 8\%$ . В условиях лесных супесчаных почв Конь-Колодезского лесничества в 22 года средний диаметр деревьев березы повислой семенного происхождения составляет 11,2 см, у регенерантов – 14,8 см, что подтверждает перспективность использования регенерантов в лесокультурной практике [6]. По высоте также наблюдается превышение (таблица 2).

Таблица 2 – Итоговая таблица однофакторного дисперсионного анализа роста культур березы по высоте, созданных сеянцами и регенерантами *in vitro*

Источники вариации	Степени свободы	Сумма квадратов отклонений	Средний Квадрат ( $\sigma^2$ )	$F_{\phi}$	$F_{st}$	
					P = 0,05	P = 0,01
Межгрупповая	1	26,1	26,1	6,07	4,2	7,6
Внутригрупповая	28	121	4,3			
Общая	29	147	5,06			

Дисперсионный анализ влияния фактора происхождения посадочного материала на интенсивность роста по высоте показал достоверность результатов. Нулевая гипотеза отвергается с вероятностью ( $P = 0,95$ ) в отношении влияния происхождения посадочного материала на рост по высоте регенерантов и семян. Средняя высота у регенерантов больше в 22 года на 3,7 м. Поскольку  $F_{\phi} > F_{st}$  в достоверности найденных показателей сомневаться не приходится. Сила влияния изучаемого фактора не высокая  $\eta^2 = 18\%$ . В условиях лесных супесчаных почв Конь-Колодезного лесничества в 22 года средняя высота деревьев березы повислой у семян составляет 12,9 м, у регенерантов – 16,6, что подтверждает перспективность использования регенерантов в лесокультурной практике [6, 7]. Качество стволов, наоборот, выше у семян.

В результате проведенного опыта можно сделать вывод о том, что происхождение исходного материала существенно влияет на рост и продуктивность березовых насаждений. Лучшие результаты показывают регенеранты *in vitro* по сравнению с сеянцами.

Осенью (8 октября) 2011 года для лесовосстановления горельников регенеранты сортов тополя сереющего были высажены как опушечные ряды вдоль дороги. Корнеотпрысковая способность этих тополей позволит от небольшого количества маточных растений получить в будущем (примерно через 10 лет) насаждение этих тополей [6, 8]. Почвы супесчано-песчаные свежие, подготовка почвы плугом ПКЛ – 70 прямолинейными бороздами. Посадка проведена в дно борозды под лопату с размещением 1,5×3,0 м. Весной 2012 г. проведен учет приживаемости, а осенью – сохранности (таблица 3). В коллекции популетума Правобережного лесничества на темно-серых суглинистых свежих почвах одновременно высажены регенеранты Тополя Приярского и Хоперский 1. Приживаемость тополя Хоперский 1 была выше на 8 %, чем у тополя Приярский. Сохранность к осени 2012 года в Левобережном лесничестве составила 75 % тополя Хоперский 1 и 23 % тополя Приярский.

Таблица 3 – Характеристика регенерантов тополя сереющего Хоперский 1 и Приярский на горельниках Левобережного лесничества Учебно-опытного лесхоза ВГЛТУ

Место закладки, лесораст. услов.	Название сорта тополя	Приживаемость (весной), %	Сохранность (осенью), %	Средняя высота, см	Состояние сохранившихся
Горельник Левобережного л-ва, (A <sub>2</sub> )	Хоперский 1	98	75	112 ± 9,5	хор.
	Приярский	90	23	0,82 ± 8,5	хор.

На супесях в условиях A<sub>2</sub> тополь Приярский сохранился на 23 %, тополь Хоперский 1 на 75 % (рисунок 2).

Летом 2018 года проведена инвентаризация культур тополя в Левобережном лесничестве (таблица 4).

Таблица 4 – Характеристика регенерантов тополя сереющего Хоперский 1 и Приярский на горельниках Левобережного лесничества Учебно-опытного лесхоза ВГЛТУ

Место закладки, лесораст. услов.	Название сорта тополя	Сохранность, %	Средняя высота, см	Состояние сохранившихся
Горельник Левобережного л-ва, (A <sub>2</sub> )	Хоперский 1	60 %	3,9 ± 0,34	2,9 ± 0,39
	Приярский	0	–	–

Тополь Приярский погиб полностью.

2. Применение биотехнологий для управления лесонасаждениями [9 и др.].

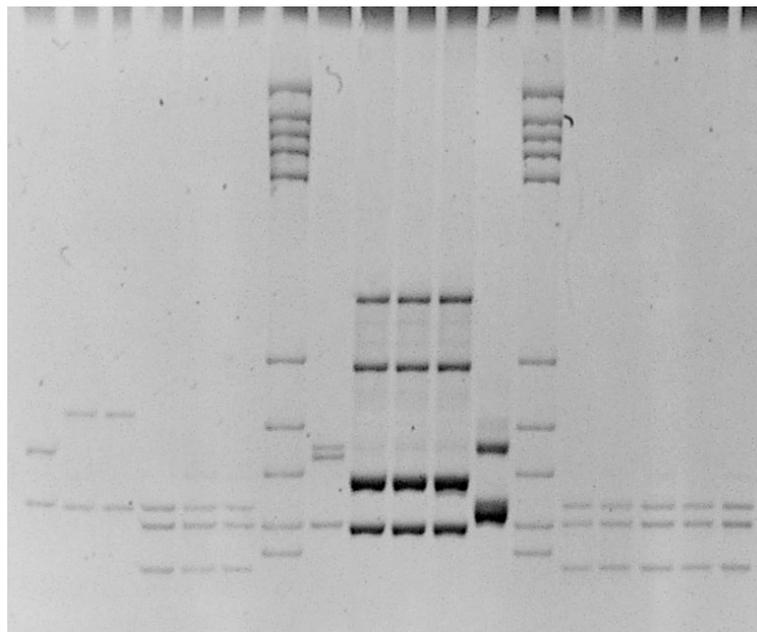
Одним из приоритетных направлений развития лесных биотехнологий является молекулярное (ДНК) маркирование, направленное на решение следующих задач лесного хозяйства:

- совершенствование принципов и подходов лесосеменного районирования (Центр защиты леса);
- мониторинг фитосанитарного состояния питомников и лесонасаждений (Центр защиты леса);
- генетическая паспортизация ценных генотипов (ИОГЕН РАН совместно с ВГЛТУ).

Выполнены крупные исследования по паспортизации отселектированных форм тополя и осины. С помощью подобранных микросателлитных праймеров и проведенного ПЦР-анализа установлены уникальные многолокусные комплексные генотипы исследованных образцов осины, диплоидных и ряда триплоидных клонов тополя сереющего. В то же время образцы тополя белого представлены всего тремя клонами: 1) идентичными оказались образцы 1, 2, 5, 6, 8; 2) имеющие другой генотип образцы 3, 4, 7 и 3) уникальный генотип был у образца 9. Для триплоидных гибридов тополей примененный метод показал высокую эффективность в подтверждения триплоидности, о чем свидетельствует наличие у одного и того же образца трех аллелей по использованным микросателлитным локусам. При этом образцы 18–20 (Хоперский 1) оказались идентичными между собой, как и образцы 23–24 (триплоид Гуляева), что подтверждает клональное происхождение этих образцов (рис. 3).



Рисунок 2 – Тополь Хоперский 1 на песчаных почвах Левобережного лесничества (конец июля 2018 г.). Высота дерева 7,0 м



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18

Рисунок 3 Изменчивость по локусу WPMS19. 1–3 – гибриды тополь×осина; 4–6, 14–18 – тополь сереющий «Хоперский 1»; 7,13 – маркер длины pBR322 NaeIII; 8 – тополь сереющий «Приярский»; 9 – Э.С. – 38 «Воронежский гигант»; 10 – триплоид № 2 клон № 9; 11 – триплоид № 2 клон № 4; 12 – тетраплоид тополя бальзамического

Таким образом, используя ДНК – анализ, осуществлен подбор и тестирование микросателлитных локусов для генетической паспортизации посадочного материала тополя и осины. Все локусы, использованные при генотипировании представителей рода *Populus*, проявили достаточно высокую степень полиморфизма, и могут быть рекомендованы для использования в паспортизации, как уже существующих плантаций и архивов клонов, так и для закладки новых.

### 3. Создание биотехнологических форм деревьев с заданными признаками.

Экономическая эффективность лесонасаждений (лесных плантаций в частности) в первую очередь зависит от продуктивности и устойчивости к биотическим и абиотическим факторам среды используемых лесных пород. В свою очередь эти характеристики зависят от генетической ценности и качества посадочного материала. В Воронежском лесотехническом университете на базе Учебно-опытного лесхоза отселектированным материалом созданы экспериментальные культуры сортов тополя и березы регенерантами *in vitro*, культуры модифицированной осины, полученной в ИБХ РАН. Культуры модифицированной осины полностью погибли, так как неграмотно подобраны почвы, то есть надо соблюдать лесоводственные технологии выращивания на основе экологии осины.

4. Другим направлением использования быстрорастущего леса является его использование в качестве сырья для биотоплива. В лесхозах Курской области запущено производство получения пеллетов из отходов деревообработки (опилки, кора, щепа и т. п.). Быстрорастущие деревья являются также одним из эффективных способов борьбы с изменением климата в качестве поглотителей углекислого газа.

Таким образом, в лесном хозяйстве ЦЧР внедряется три направления биотехнологии: микроклональное размножение и создание плантационных культур, молекулярное (ДНК) маркирование для диагностики заболеваний растений и паспортизации селекционных форм и сортов древесных растений и производство получения пеллетов из отходов деревообработки.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Исаков, И.Ю. Биотехнология в лесном хозяйстве [Текст] учебное пособие/ И.Ю. Исаков, А.И. Сиволапов, М.Ю. Нечаева. – Воронеж: ВГЛТУ, 2017. – 208 с.
2. Лесной кодекс Российской Федерации. Комментарии [Текст]: изд. 2-е, доп. / Под общ. Ред. Н.В. Комаровой, В.П. Рошупкина. – М.: ВНИИЛМ, 2007. – 856 с.
3. Сиволапов, А.И. Цитологические, молекулярные и лесоводственно-селекционные исследования коллекции полиплоидных тополей/ А.И. Сиволапов, Д.В. Политов, О.С. Машкина, М.М. Белоконь, В.А. Сиволапов, Ю.С. Белоконь, Т.М. Табацкая // Сибирский лесной журнал. – 2014. – № 4. – С. 50–58.
4. Сиволапов, А.И. Селекция и семеноводство древесных растений: уч. пособие [Текст] / А.И. Сиволапов. – Воронеж: ВГЛТА, 2011. – 204 с.
5. Сиволапов, В.А. Применение молекулярно-генетической диагностики для фитосанитарного обследования лесных питомников [Текст] / В.А. Сиволапов, Н.А. Карпеченко, В.Н. Вепринцев // Лесотехнический журнал. – 2014. – № 4. – С. 53–61.
6. Сиволапов, В. Плантационное лесовыращивание березы, ольхи и тополя с использованием биотехнологии in vitro / В. Сиволапов, А. Сиволапов, Т. Благодарова. Saarbrücken, Deutschland: LAP LAMVERT Academic Publishing, 2014. – 120 с. Электронная книга. <http://dnb.d-nb.de>
7. Сиволапов, А.И. Перспективные направления биотехнологии в подготовке специалистов для лесного комплекса ЦЧР [Текст] / А.И. Сиволапов, А.С. Черных, В.А. Сиволапов // Актуальная биотехнология, 2017. – № 2 (21). – С. 118 – 122.
8. Sivolapov A, Blagodarova T, and Sivolapov V Forty-five-year monitoring of selection stands of white (*Populus alba* L.), gray (*Populus canescens* Sm.), black poplar (*Populus nigra* L.) and willow (*Salix alba* L.) in Kheper State Natural Reserve. FORESTRY 2018. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science 226 (2019) 011001. pp. 1–9.
9. Kulju K.K.M., Pekkinen M., Varvio S. Twenty-three microsatellite primer pairs for *Betula pendula* (Betulaceae) // Molecular Ecology Notes. 2004. V. 4. P. 471–473.