

УДК 674.031.623.234.2

UDC 674.031.623.234.2

**МОРФОЛОГО-АНАТОМИЧЕСКОЕ
ИССЛЕДОВАНИЕ ЦЕННЫХ ФОРМ
ТРИПЛОИДНОЙ ОСИНЫ¹**

**MORPHOLOGICAL AND ANATOMICAL
STUDIES OF TRIPLOID FORMS OF ASPEN**

Зонтиков Дмитрий Николаевич
к.с.-х.н.

Zontikov Dmitriy Nikolaevich
Cand.Agr.Sci.

Зонтикова Светлана Анатольевна
к.с.-х.н.
*Костромской государственный университет им.
Некрасова, Кострома, Россия*

Zontikova Svetlana Anatolyevna
Cand.Agr.Sci.
*Nekrasov Kostroma State University, Kostroma,
Russia*

Новиков Петр Сергеевич
аспирант

Novikov Petr Sergeyevitch
postgraduate student

Сергеев Роман Владимирович
ст. преподаватель

Sergeyev Roman Vladimirovitch
senior lecturer

Шургин Алексей Иванович
к.с.-х.н., доцент
*Поволжский государственный технологический
университет, Йошкар-Ола, Россия*

Shurgin Alexey Ivanovitch
Cand.Agr.Sci., associate professor
*Volga State University of Technology, Yoshkar-Ola,
Russia*

Проведено обследование популяций триплоидных растений *Populus tremula* L. генетического резервата осины в Шарьинском районе Костромской области. Найдены популяции *P. tremula* L. не поражённые грибом *Phellinus tremulae* Bond. et Boris. Проведен морфологический и цитологический анализ образцов растений отобранных из генетического резервата в 1961 году. Подтверждена триплоидная природа отобранных образцов

In this article, we have presented the survey of populations of triploid plant of *Populus tremula* L. genetic reserve of aspen in the area of Sharinsk in the Kostroma region. We have found the population of *P. tremula* L. not affected by the *Phellinus tremulae* Bond. et Boris fungus. The morphological and cytological analysis of plant samples taken from this genetic reserve in 1961 has been made. It has finally confirmed the triploid nature of the samples

Ключевые слова: *POPULUS TREMULA* L., ЛИСТОВАЯ ПЛАСТИНА, УСТЬИЦЕ, ПЫЛЬЦЕВОЕ ЗЕРНО, ХЛОРОПЛАСТЫ

Keywords: *POPULUS TREMULA* L., SHEET PLATE, STOMATA, POLLEN GRAINS, CHLOROPLASTS

Введение. Для удовлетворения все возрастающей потребности общества в древесине и продуктах ее переработки следует повысить продуктивность существующих и создать новые высокопродуктивные лесные насаждения. Повышение продуктивности лесов возможно в первую очередь за счет выращивания быстрорастущих древесных видов, особенно высококачественных форм местных пород. Одним из наиболее

¹ Работа выполнена в рамках реализации ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007 - 2013 годы» при финансовой поддержке Минобрнауки России (Государственный контракт №14.518.11.7055 от 20.07.2012 г.) на базе Биотехнологического комплекса по воспроизводству высших растений в условиях «чистой комнаты».

хозяйственно-ценных лиственных видов растений является *Populus tremula* L., разводимый на больших площадях во многих странах Европы, Азии и Америки. Осина (Тополь дрожащий) – быстрорастущая древесная порода, возраст спелости ее древостоев наступает в 2-2,5 раза быстрее нежели хвойных пород и дуба. Древесина здоровой осины пользуется большим спросом как строительный и поделочный материал, а также в спичечной, целлюлозно-бумажной промышленности, производстве мебели и т.д. Древесина ее вполне пригодна для производства целлюлозы всеми известными в технике способами. Однако, несмотря на это, в нашей стране древесина осины в целлюлозно-бумажной промышленности используется мало, в то время как за границей она имеет широкое применение в производстве специальных сортов бумаги.

Однако тополя предъявляют высокие требования к плодородию почвы, строгое соблюдение агротехники при их выращивании. Её использование ограничивается поражением грибом *Phellinus tremulae* (Bondartsev) Bondartsev & P.N. Vorisov, который вызывает разрушение древесины. В Шарьинском районе создан генетический резерват триплоидной формы *P. tremula*, особи которых обладают устойчивостью к этому грибу и представляют интерес для плантационного выращивания (рис. 1). В 1961 году под Костромой создана плантация наиболее ценных форм *Populus tremula* L.



Рисунок 1 – Фотография осинника в генетическом резервате Шарьинского района Костромской области (триплоидный клон №35)

Как правило, тополь является двудомным растением, число хромосом которого составляет $2n=38$ [1]. Полиплоидные особи встречаются редко, и сообщения об этом имеются только в отношении полудесятки видов [2]. Первым обнаруженным триплоидным деревом был клон *P. tremula* [3, 21: 383-393.]. С того времени были найдены еще несколько природных триплоидных клонов *P. tremula* и *P. tremuloides*, которые имели более крупные листья и исключительный рост [4]. Есть сообщения о том, что пол тополя определяется половыми хромосомами [5], однако, эта теория остается спорной. В то время, как большинство авторов склонны к генетическому определению пола, анализ сцепления между генными локусами почти 2 500 RAPD маркеров в расщепляющемся поколении гибрида F1 между *P. trichocarpa* и *P. deltoides* не выявил никаких маркеров, которые имели бы значимую связь с полом растения [6]. Авторы предположили, что пол может определяться генетически участками генома, не представленными известными маркерами комплекса локусов с аддитивным пороговым или эпистатическим взаимодействием, или что в начале развития зиготы пол определяют условия окружающей среды.

Род *Populus* очень разнообразен. Его виды распространены по всему Северному полушарию, и возможности создания новых генотипов с помощью гибридизации огромны. Программы селекции не использовали эту генетическую изменчивость, хотя количественная оценка наследственности в узком и широком смысле, а также сопряженная изменчивость среди отбираемых параметров, несомненно, помогла бы обеспечить большую эффективность стратегии размножения и селекции [7]. Тополь идеально подходит для количественных генетических

исследований и изучения комплексного воздействия генов, поскольку репликация клонов может быть легко достигнута [8]. Поэтому удивительно, что генетическая изменчивость была подробно изучена только в отношении нескольких видов и свойств.

Настоящий потенциал видов тополя можно определить только с помощью генетических исследований, направленных на изучение распределения изменчивости между лесными популяциями и внутри них. К сожалению, межвидовая гибридизация осталась совсем без внимания селекционеров, и детальные исследования крупных природных популяций появились относительно недавно, при этом хорошо описано только несколько видов [9,10].

В популяциях триплоидных деревьев *Populus tremula* L. наблюдается изменение плоидности не только в половых клетках, но и в соматических, часто можно наблюдать миксоплоидные растения [11]. Исходя из этого, цель данной работы – проследить с помощью морфологического и цитологического анализа – сохраняют ли триплоидность отобранные клоны осины.

Известно, что количество устьиц и хлоропластов в замыкающих клетках устьиц у полиплоидного растения будет отличаться в большую сторону в сравнении с диплоидным [12]. Проанализировано 9 деревьев триплоидной осины – клонов 27, 30 и 35, а также 3 дерева с диплоидным набором хромосом, в качестве контроля. С каждого дерева отбиралось по 30 листьев. Под микроскопом проводили подсчёт числа устьиц в поле зрения при увеличении $\times 400$, подсчитывали число хлоропластов в замыкающих клетках устьиц при увеличении $\times 600$ (рис. 2).

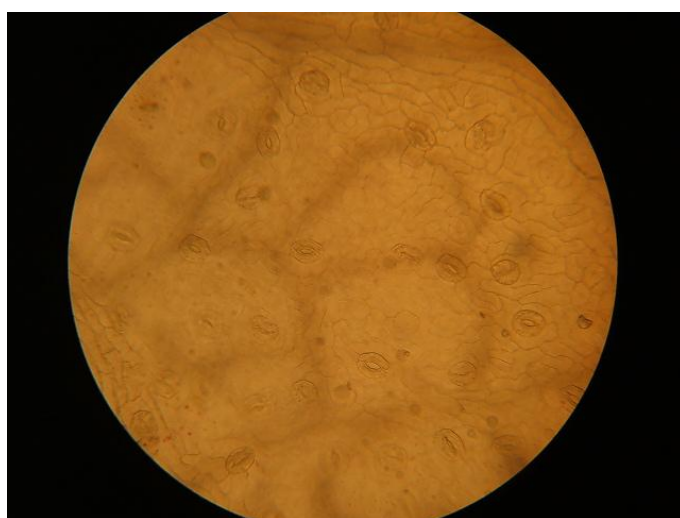
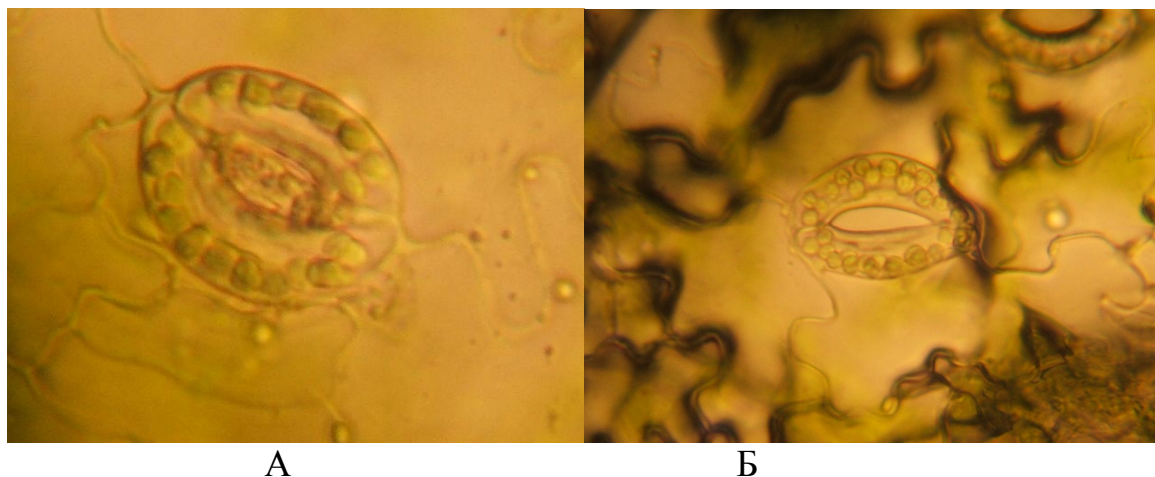


Рисунок 2 – Фотография замыкающих клеток устьиц: А – диплоидной осины, Б – триплоидной, В – общий вид устьиц

Результаты цитологического анализа образцов приведены в табл. 1.

Таблица 1 - Среднее число устьиц и хлоропластов в замыкающих клетках устьиц

Клон №	№	Среднее число устьиц, шт.	Среднее число хлоропластов, шт.
Контроль	1	19±3	22±2
	2	16±3	23±3
Клон 27	1	22±3	28±2
	2	24±4	27±2
	3	28±4	26±4
Клон 30	1	21±3	29±5
	2	24±4	28±4
	3	25±2	17±2
Клон 35	1	23±4	27±2
	2	25±5	28±2
	3	23±2	27±2

Как видим, среди проанализированных образцов наблюдается наличие признаков (большее по сравнению с контрольными образцами число устьиц в поле зрения микроскопа и среднее число хлоропластов в замыкающих клетках устьиц), косвенно указывающих на то, что данные образцы являются триплоидами.

Отобранные образцы также отличаются от контрольных по своим морфологическим показателям (длине листовой пластины и мужских соцветий, числу пыльцевых зёрен и их диаметру). Под микроскопом в камере Горяева проводили подсчёт числа пыльцевых зёрен при увеличении $\times 400$, диаметр пыльцевых зёрен измеряли с помощью окуляр-микрометра при увеличении $\times 400$ (рис. 3).

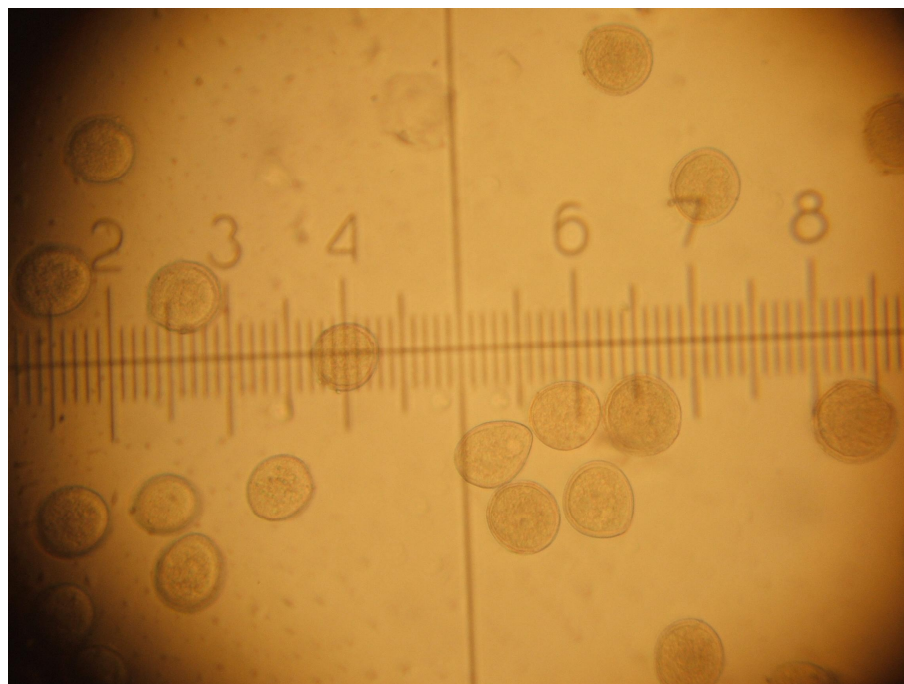


Рисунок 3 – Фотография пыльцевых зёрен осины клон №35

Длина листовой пластины – признак, который достаточно сильно меняется в зависимости от порядка побега, на котором находится лист. Поэтому при учёте длины листовой пластины образцы отбирались от побегов одного порядка, находящихся на одной высоте (рис. 4).



Рисунок 4 – Фотография листовой пластины осины диплоидной (1, 2) и клона №35 (3)

Генеративные органы отличаются меньшей изменчивостью по сравнению с вегетативными, поэтому по ним можно более точно говорить об изменении плоидности растения.

Ряд морфологических характеристик свидетельствуют о том, что отобранные образцы являются триплоидами (табл. 2).

Таблица 2. - Характеристика клонов осины по некоторым морфологическим параметрам

Номер образца	Средняя длина листовой пластины, мм	Средняя длина мужских соцветий, мм	Среднее число пыльцевых зёрен, шт.	Средний диаметр пыльцевых зёрен, мм
контроль	58±7	85±5	1900±120	0,026±0,001
Клон 27				
1	77±14	100±4	2230±120	0,029±0,001
2	67±5	95±6	2100±130	0,028±0,001
Клон 30				
1	80±3	105±7	2200±130	0,027±0,001
2	81±5	103±4	2300±140	0,028±0,001
Клон 35				
1	94±3	93±3	2300±120	0,029±0,001
2	92±2	97±4	2200±130	0,028±0,001

Очевидно, что отобранные образцы, обладающие рядом хозяйственно ценных признаков, по косвенным показателям можно отнести к триплоидным формам осины.

Ценность триплоидной осины заключается не только в высокой продуктивности и устойчивости к болезням, но и в хороших технических качествах ее древесины [13].

Единственным способом получения резистентных к гнили древостоев *Populus tremula* L. является размножение здоровых клонов. Однако размножение триплоидной осины осложняется тем, что растения, имеющие нечетный набор хромосом, не размножаются семенами. Кроме того, черенки осины плохо укореняются. Также, при традиционных способах размножения, велика вероятность распространения скрытых инфекций, которые проявятся уже в лесных культурах. Поэтому широкие возможности по размножению ценных форм деревьев открываются лишь при использовании современных методов биотехнологии, а именно технологии микроклонального размножения [13,14]

Работа выполнена в рамках реализации ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007 - 2013 годы» при финансовой поддержке Минобрнауки России (Государственный контракт №14.518.11.7055 от 20.07.2012 г.) на базе Биотехнологического комплекса по воспроизводству высших растений в условиях «чистой комнаты».

Список литературы:

1. Blackburn, K.B., and Harrison, J.W.H. 1924. A preliminary account of the chromosomes and chromosome behaviour in the Salicaceae. *Ann. Bot.* 38: 361-378. Smith, E.C. 1943. A study of the cytology and speciation in the genus *Populus*. *J. Arnold Arboretum* 24: 275-304.
2. Darlington, C.D., and Wylie, A.P. 1956. *Chromosome atlas of flowering plants*. MacMillan Co., New York.
3. Muentzing, A. 1936. The chromosomes of a giant *Populus tremula*. *Hereditas*
4. Einspahr, D.W., van Buijtenen, J.P., and Peckham, J.R. 1963. Natural variation and heritability in triploid aspen. *Silvae Genet.* 12: 51-58. Heimburger, C. 1968. Poplar breeding in Canada. In *Growth and utilization of poplars in Canada*. Publ. No. 1205, Can. For. Bra. pp. 88-100. Einspahr, D.W., and Winton, L.L. 1976. Genetics of quaking aspen. *Res. Pap. WO-25, USDA For. Serv.* 23 pp.

5. Smith, E.C. 1943. A study of the cytology and speciation in the genus *Populus*. *J. Arnold Arboretum* 24: 275-304. Peto, F.H. 1938. Cytology of poplar species and natural hybrids. *Can. J. Res. (Sec. C)* 16: 445-455. van Buijtenen, J.P., and Einspahr, D.W. 1959. Note on the presence of sex chromosomes in *Populus tremuloides*. *Bot. Gaz.* 121: 60-61
6. McLetchie, D.N., Tuskan, G.A., and Dietrichson, J. 1994. Gender determination in *Populus*. *Norweigan J. Agric. Sci.* 18: 57-66
7. Riemenschneider, D.E., Stelzer, H.E., and Foster, G.S. 1996. Quantitative genetics of poplars and poplar hybrids. In *Biology of Populus and its implications for management and conservation*. Edited by R.F. Stettler, H.D. Bradshaw Jr., P.E. Heilman and T.M. Hinkley. NRC Research Press, National Research Council Canada, Ottawa, ON. pp. 159-181
8. Foster, G.S., and Shaw, D.V. 1988. Using clonal replicates to explore genetic variation in a perennial plant species. *Theor. Appl. Genet.* 76: 788-794. Mullin, T.J., and Park, Y.S. 1992. Estimating genetic gains from alternative breeding strategies for clonal forestry. *Can. J. For. Res.* 22: 14-23. Bradshaw, H.D. and Foster, G.S. 1992. Marker-aided selection and propagation systems in trees: advantages of cloning for studying quantitative inheritance. *Can. J. For. Res.* 22: 1044-1049
9. Mohrdiek, O. 1983. Discussion: future possibilities for poplar breeding. *Can. J. For. Res.* 13: 465-471
10. Farmer, R.E., Jr. 1991. Genetic improvement of poplar in western Canada: alternatives, opportunities, and pitfalls. In *Aspen management for the 21st century*. Edited by S. Navratil and P.B. Chapman. pp. 129-134.
11. Тамм Ю.А., Ярвекюльг Л.Я. Результаты поисков триплоидной осины в Эстонской ССР // *Лесоведение*. 1975. № 6. С. 19-25.
12. Пухальский В.А., Соловьев А.А., Юрцев В.Н. Цитология и цитогенетика растений. М.: Изд-во МСХА, 2004. 118 с.
13. Газизуллин А.Х., Гарипов Н.Р., Чернов В.И., Исмагилов Р.И. Результаты выращивания различных генотипов осины в ГБУ «Сабинский учебно-опытный лесхоз» республики Татарстан // *Аграрная Россия – М., 2009 – спец. выпуск – С. 17-18.*
14. Аубакирова Л.С., Калашникова Е.А. Интенсификация выращивания лесопосадочного материала // *Биотехнология. Теория и практика – Астана, 2011 – Вып. №2 – С. 19-24.*

References

1. Blackburn, K.B., and Harrison, J.W.H. 1924. A preliminary account of the chromosomes and chromosome behaviour in the Salicaceae. *Ann. Bot.* 38: 361-378. Smith, E.C. 1943. A study of the cytology and speciation in the genus *Populus*. *J. Arnold Arboretum* 24: 275-304.
2. Darlington, C.D., and Wylie, A.P. 1956. *Chromosome atlas of flowering plants*. MacMillan Co., New York.
3. Muentzing, A. 1936. The chromosomes of a giant *Populus tremula*. *Hereditas*
4. Einspahr, D.W., van Buijtenen, J.P., and Peckham, J.R. 1963. Natural variation and heritability in triploid aspen. *Silvae Genet.* 12: 51-58. Heimburger, C. 1968. Poplar breeding in Canada. In *Growth and utilization of poplars in Canada*. Publ. No. 1205, Can. For. Bra. pp. 88-100. Einspahr, D.W., and Winton, L.L. 1976. Genetics of quaking aspen. *Res. Pap. WO-25, USDA For. Serv.* 23 pp.
5. Smith, E.C. 1943. A study of the cytology and speciation in the genus *Populus*. *J. Arnold Arboretum* 24: 275-304. Peto, F.H. 1938. Cytology of poplar species and natural hybrids. *Can. J. Res. (Sec. C)* 16: 445-455. van Buijtenen, J.P., and Einspahr, D.W. 1959. Note on the presence of sex chromosomes in *Populus tremuloides*. *Bot. Gaz.* 121: 60-61

6. McLetchie, D.N., Tuskan, G.A., and Dietrichson, J. 1994. Gender determination in *Populus*. *Norweigan J. Agric. Sci.* 18: 57-66
7. Riemenschneider, D.E., Stelzer, H.E., and Foster, G.S. 1996. Quantitative genetics of poplars and poplar hybrids. In *Biology of Populus and its implications for management and conservation*. Edited by R.F. Stettler, H.D. Bradshaw Jr., P.E. Heilman and T.M. Hinkley. NRC Research Press, National Research Council Canada, Ottawa, ON. pp. 159-181
8. Foster, G.S., and Shaw, D.V. 1988. Using clonal replicates to explore genetic variation in a perennial plant species. *Theor. Appl. Genet.* 76: 788-794. Mullin, T.J., and Park, Y.S. 1992. Estimating genetic gains from alternative breeding strategies for clonal forestry. *Can. J. For. Res.* 22: 14-23. Bradshaw, H.D. and Foster, G.S. 1992. Marker-aided selection and propagation systems in trees: advantages of cloning for studying quantitative inheritance. *Can. J. For. Res.* 22: 1044-1049
9. Mohrdiek, O. 1983. Discussion: future possibilities for poplar breeding. *Can. J. For. Res.* 13: 465-471
10. Farmer, R.E., Jr. 1991. Genetic improvement of poplar in western Canada: alternatives, opportunities, and pitfalls. In *Aspen management for the 21st century*. Edited by S. Navratil and P.B. Chapman. pp. 129-134.
11. Tamm Ju.A., Jarvekjul'g L.Ja. Rezul'taty poiskov triploidnoj osiny v Jestonskoj SSR // *Lesovedenie*. 1975. № 6. S. 19-25.
12. Puhalskij V.A., Solov'ev A.A., Jurcev V.N. *Citologija i citogenetika rastenij*. M.: Izd-vo MSHA, 2004. 118 s.
13. Gazizullin A.H., Garipov N.R., Chernov V.I., Ismagilov R.I. Rezul'taty vyrashhivaniya razlichnyh genotipov osiny v GBU «Sabinskij uchebno-opytnyj leshoz» respubliki Tatarstan // *Agrarnaja Rossija – M.*, 2009 – spec. vypusk – S. 17-18.
14. Aubakirova L.S., Kalashnikova E.A. Intensifikacija vyrashhivaniya lesoposadochnogo materiala // *Biotehnologija. Teorija i praktika – Astana*, 2011 – Vyp. №2 – S. 19-24.