

Т. Н. Куделина<sup>1</sup>, А. В. Константинов<sup>2</sup>, Л. В. Обуховская<sup>1</sup>, О. В. Молчан<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт экспериментальной ботаники имени В. Ф. Купревича НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

<sup>2</sup>Институт леса НАН Беларуси, Гомель, Республика Беларусь

## ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА МИКРОКЛОНОВ *POPULUS TREMULA* L. И *BETULA PENDULA* ROTH. ПРИ LED-ОСВЕЩЕНИИ РАЗЛИЧНОГО СПЕКТРАЛЬНОГО СОСТАВА В ПРОЦЕССЕ АДАПТАЦИИ *EX VITRO*

**Аннотация.** Исследованы особенности влияния LED-освещения с варьируемыми соотношениями физиологически значимых спектральных диапазонов (красный/синий (К/С), красный/(синий + зеленый) (К/(С + З)), красный/дальний красный (К/ДК)) на формирование фотосинтетического аппарата микроклонально размноженных растений осины обыкновенной (*Populus tremula* L.) и березы повислой (*Betula pendula* Roth.) при адаптации *ex vitro*. У регенерантов осины наблюдались стимуляция образования метамеров и увеличение диаметра стебля при LED-освещении, в то время как у березы данные эффекты были выражены слабо. У растений-регенерантов осины и березы наблюдали снижение содержания фотосинтетических пигментов в условиях LED-освещения с меньшим уровнем синего света в спектре и большим – красного. Площадь листьев регенерантов березы практически не зависела от спектрального состава LED-освещения, в то время как у осины она была тем больше, чем ниже был уровень синего света и чем выше – уровень красного. Полученные результаты свидетельствуют о видовой специфичности восприятия древесными растениями-регенерантами при адаптации *ex vitro* света разных длин волн и их соотношений, что указывает на необходимость индивидуального режима освещения для каждого вида растений.

**Ключевые слова:** микроклональное размножение, растения-регенеранты, адаптация, светодиодное освещение, фотосинтетические пигменты, метамеры, сухое вещество, *Populus tremula*, *Betula pendula*

**Для цитирования:** Особенности формирования фотосинтетического аппарата микроклонов *Populus tremula* L. и *Betula pendula* Roth. при LED-освещении различного спектрального состава в процессе адаптации *ex vitro* / Т. Н. Куделина [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биял. наук. – 2019. – Т. 64, № 4. – С. 456–466. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2019-64-4-456-466>

T. N. Kudelina<sup>1</sup>, A. V. Konstantinov<sup>2</sup>, L. V. Obukhovskaya<sup>1</sup>, O. V. Molchan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

<sup>2</sup>Forest Institute of the National Academy of Sciences of Belarus, Gomel, Republic of Belarus

## FEATURE OF FORMATION OF PHOTOSYNTHETIC APPARATUS OF MICROCUTTINGS OF *POPULUS TREMULA* L. AND *BETULA PENDULA* L. AT LED-LIGHTING OF VARIOUS SPECTRAL COMPOSITION DURING *EX VITRO* ADAPTATION

**Abstract.** The peculiarities of the influence of LED-lighting of different spectral composition with varying ratios of physiologically significant spectral ranges on biometric parameters and the pigment composition of the leaf plate of microclonally propagated aspen (*Populus tremula* L.) and birch (*Betula pendula* Roth.) plants were identified during the adaptation *ex vitro*, which indicate the species specificity of plants response to the illumination spectrum.

**Keywords:** micropropagation woody plants, *ex vitro* adaptation, LED lighting, photosynthetic pigments, metamers, dry matter, *Populus tremula*, *Betula pendula*

**For citation:** Kudelina T. N., Konstantinov A. V., Obukhovskaya L. V., Molchan O. V. Feature of formation of photosynthetic apparatus of microcuttings of *Populus tremula* L. and *Betula pendula* Roth. at LED-lighting of various spectral composition during *ex vitro* adaptation. *Vestsi Natsyyanal' nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2019, vol. 64, no. 4, pp. 456–466 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2019-64-4-456-466>

**Введение.** Изменение климата оказывает значительное влияние на продуктивность, породный состав и биоразнообразие лесных экосистем, вызывает риски возникновения пожаров, ветровалов и буреломов, массового размножения вредителей в лесах. Поэтому крайне важным является решение проблем формирования оптимальной структуры леса, в том числе нормализа-

ции баланса между потреблением и воспроизводством древесной фитомассы [1]. В связи с этим высокую актуальность приобретают вопросы создания лесных плантаций из быстрорастущих пород деревьев, в частности из представителей родов *Populus* и *Betula* [2].

Осина обыкновенная (*Populus tremula* L.) является ценным сырьем для целлюлозно-бумажной промышленности, топливно-энергетического комплекса и строительной отрасли. Она характеризуется повышенной скоростью роста, что позволяет создавать специализированные плантации и получать качественную древесину в 1,5–2,0 раза быстрее, чем при ее естественном возобновлении в природных экосистемах [2]. Береза повислая (*Betula pendula* Roth.) занимает важное место в лесной отрасли стран Северной и Восточной Европы, в том числе в Беларуси, где доля насаждений с ее участием составляет около 23 %. Береза повислая характеризуется высокой продуктивностью и менее, чем осина, подвержена заболеваниям, поэтому ее также следует использовать в плантационном лесовыращивании [3].

Метод клонального микроразмножения древесных культур для создания лесных плантаций становится все более востребованным, так как позволяет в короткие сроки получить большое количество посадочного материала высокого качества. Кроме того, часто одним из основных препятствий в производстве лесных культур осины является ее поражение патогенными организмами, приводящими к развитию сердцевинных гнилей ствола. Эту проблему можно решить, используя посадочный материал, полученный методом микроклонального размножения деревьев, имеющих устойчивость к заболеваниям.

При этом широкомасштабное внедрение этой технологии ограничено тем, что растения-регенеранты трудно приживаются в условиях адаптации *ex vitro*. Проблемы адаптации микроклонально размноженных растений во многом обусловлены условиями культивирования *in vitro*: стерильностью, высокой влажностью, низким уровнем освещения, миксотрофным способом питания, наличием в питательных средах фитогормонов и др. В результате формируются растения со специфическими морфологией и метаболизмом (так называемый «культуральный» фенотип) [4, 5]. Такие приспособительные реакции микроклонально размноженных регенерантов соответствуют условиям выращивания *in vitro*, но создают проблемы при адаптации *ex vitro*. Низкое содержание в листьях растений-регенерантов кутикулярного воска и слабо развитая хлоропласта приводят к потере большого количества воды и необратимому обезвоживанию [4]. Формирующаяся в условиях *in vitro* корневая система регенерантов часто характеризуется отсутствием корневых волосков, а устьичный аппарат имеет низкую активность, поэтому у растений слабая водопоглощающая способность, что также отрицательно сказывается на их адаптации *ex vitro* [4]. При смене субстрата выращивания (с агарового, содержащего сахарозу, на почвогрунт) и условий освещения растения-регенеранты вынуждены переходить с миксотрофного на фототрофный способ питания, для чего требуются временные и энергетические затраты [5]. Поэтому для успешной адаптации микроклонально размноженных растений-регенерантов необходимо ускорить формирование у них фенотипа, устойчивого к изменению условий освещения и влажности воздуха. Очевидно, что при переходе на фототрофное питание особенно важным является развитие фотосинтетического аппарата (ФСА), обеспечивающего как поглощение света, так и трансформацию его энергии в энергию химических связей. Система ФСА является сложно организованной и может быть охарактеризована на разных уровнях: от молекулярного (фотосинтетические пигменты, компоненты электрон-транспортной цепи) до уровня листа как специализированного органа фотосинтеза. Немаловажную роль играет также образование проводящих систем, обеспечивающих транспорт ассимилятов между донорными и акцепторными органами.

Одним из ключевых стимулов, влияющих на морфогенез и формирование ФСА растений-регенерантов, является спектральный состав освещения. Растения воспринимают свет через систему основных белков-фоторецепторов: фитохромов (красный (К) и дальний красный (ДК) свет), криптохромов и фототропинов (синий (С), зеленый (З), ультрафиолетовый (УФ-А) [6–8]. Благодаря фоторецепторам и взаимодействиям между ними растения определенным образом реагируют на качество и количество света через активацию сигнальных систем и путей трансдукции световых сигналов. В результате регулируется синтез фотосинтетических пигментов, биогенез хлоропластов, создаются форма и ультраструктура листовой пластинки.

Наиболее эффективные источники света для регуляции морфогенеза растений могут быть созданы на основе светодиодов (LED – Light-Emitting Diodes). Использование LED позволяет создавать уникальные спектральные композиции для точного управления физиологическими реакциями в зависимости от целей и задач культивирования конкретного вида растения, в том числе регулировать формирование ФСА для оптимизации ростовых и адаптационных процессов [9, 10]. В настоящее время считается общепризнанным, что растениям для нормального функционирования недостаточно только красного или синего света (наиболее эффективных для фотосинтеза) – необходимо полнспектральное освещение. Однако вопрос о том, каким должно быть соотношение физиологически значимых спектральных диапазонов (К/С, К/(С + З), К/ДК), все еще открыт, так как растения обладают сложными механизмами фоторецепции, а их существование обеспечивается не только фотосинтетическими, но и фотоморфогенетическими процессами, регулируемые с помощью света разных длин волн и их соотношений.

Цель данной работы – установить особенности влияния LED-освещения различного спектрального состава с варьируемыми соотношениями физиологически значимых спектральных диапазонов на формирование фотосинтетического аппарата микроклонально размноженных растений осины обыкновенной и березы повислой в период их адаптации к условиям *ex vitro*.

**Объекты и методы исследования.** Для исследований были использованы микроклонально размноженные растения осины обыкновенной (клон V22) и березы повислой (клон 31) из коллекции Института леса НАН Беларуси [11]. V22 является одним из клонов осины белорусской селекции, относящийся к быстрорастущей зеленокорой форме с повышенной устойчивостью к поражению трутовыми грибами [11]. Микроклоны культивировали *in vitro* на агаризованной питательной среде, содержащей макроэлементы WPM с добавлением микроэлементов и витаминов по прописи состава MS и 30 г·л<sup>-1</sup> сахарозы, без фитогормонов, в течение 30 сут при люминесцентном (Luminescent Lamp – LL, контроль) и LED-освещении (400–800 нм) с различным содержанием квантов синей, красной, зеленой и дальней красной областей в спектре при плотности потока фотонов (ППФ) 15 мкмоль·м<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup> и температуре 23 ± 1 °С [12].

Адаптацию к условиям *ex vitro* проводили в торфяном субстрате Terra Vita (ЗАО «МНПП «Фарт»», Россия) при тех же вариантах освещения, но с увеличением ППФ до 150 мкмоль·м<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup> (табл. 1). LED-облучатели были изготовлены в Центре светодиодных и оптоэлектронных технологий НАН Беларуси по техническому заданию Института экспериментальной ботаники НАН Беларуси [13].

Адаптация стерильных микроклональных регенерантов к нестерильным условиям роста до высадки растений в открытый грунт на постоянное место культивирования включала три этапа [11]:

- 1) 1–14-е сутки – микроклональные саженцы, высаженные в заполненные субстратом емкости, выращивали в климатоканере при влажности воздуха 80–90 %, температуре 21–23 °С, фотопериоде 16/8 ч.
- 2) 15–30-е сутки – влажность воздуха в климатоканере снижали до 50–60 %, остальные условия не изменяли.
- 3) 31–60-е сутки – влажность воздуха в климатоканере снижали до 30–40 %, остальные условия не изменяли.

Т а б л и ц а 1. Характеристика вариантов освещения

T a b l e 1. Characteristics of lighting options

Характеристика облучателей	LL	LED 1	LED 2	LED 3	
Плотность потока фотонов (ППФ), %	400–499 нм	27,5	34,9	21,4	14,7
	500–599 нм	20,9	14,5	14,5	14,6
	600–699 нм	48,6	38,9	52,9	59,2
	700–800 нм	3,1	11,7	11,3	11,5
Соотношение частей спектра	К/С	1,8	1,0	2,5	4,0
	К/(С+З)	1,0	0,8	1,5	2,0
	К/ДК	15,7	3,3	4,7	5,1

В течение периода адаптации оценивали высоту, количество и длину междоузлий, площадь листьев, диаметр стебля. Определение концентрации фотосинтетических пигментов проводили согласно Wettstein [14]. Удельную поверхностную плотность листьев (УППЛ) рассчитывали как отношение сухой массы листа к его площади [15]. Вышеперечисленные показатели определяли в конце каждого этапа адаптации не менее чем у 20 растений каждого варианта. Для обработки экспериментальных данных использовали общепринятые методы биологической статистики, данные в таблицах

и на гистограммах приведены в виде средних арифметических значений со стандартными ошибками. Различия средних показателей считали достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$  [16].

**Результаты и их обсуждение.** Хорошо известно, что правильно подобранное LED-освещение позволяет регулировать рост растений, их развитие, накопление биомассы, процессы фотоморфогенеза и фотосинтеза, что особенно важно при адаптации *ex vitro* микроклонально размноженных растений-регенерантов. Прежде всего необходимо установить спектральные характеристики освещения, оптимальные для формирования ФСА конкретного вида растения, в зависимости от стадии развития, условий и целей культивирования.

Выбор спектрального состава использованных в данной работе источников LED-освещения был основан на анализе литературных данных и результатах наших предыдущих исследований влияния света на рост и развитие растений, в том числе микроклонально размноженных регенерантов древесных и кустарниковых культур [10, 13]. Важным представлялось установить в спектре оптимальное соотношение длин волн в красном, дальнем красном и синем+зеленом диапазонах, адресованных фитохромной и криптохромной системам, которые наиболее эффективно способствуют развитию фотоморфогенетических процессов, в том числе формированию ФСА (табл. 1).

Одним из ключевых контролируемых фоторецепторами фотоморфогенетических ответов растения является изменение биометрических параметров: длины стебля, количества и длины междоузлий. При этом количество формирующихся метамеров опосредованно характеризует число закладывающихся листьев. Поэтому в данной работе было изучено влияние LL- (контроль) и LED-освещения на изменение длины стебля и междоузлий растений-регенерантов осины обыкновенной и березы повислой в процессе адаптации (табл. 2).

Т а б л и ц а 2. Биометрические показатели растений осины обыкновенной и березы повислой при адаптации в разных условиях освещения

Table 2. Biometric indicators of aspen and birch plants during the adaptation in various lighting conditions

Параметр	Этап адаптации	Осина обыкновенная				Береза повислая			
		LL	LED 1	LED 2	LED 3	LL	LED 1	LED 2	LED 3
Длина стебля, см	1	6,8±0,42	5,3±0,34*	3,9±0,17*	5,3±0,34*	4,7±0,34	4,5±0,32	4,3±0,34	4,5±0,27
	2	12,5±0,53	14,1±0,56*	13,1±0,38	13,5±0,53	8,2±0,89	9,9±0,66	9,01±0,59	9,8±0,46
	3	16,5±1,47	25,1±2,28*	22,6±1,32*	25,0±1,37*	14,2±1,01	14,4±2,47	14,0±1,03	14,6±1,08
Прирост в высоту за 60 сут, см	1–3	13,9±1,53	22,9±2,27*	20,5±1,32*	22,6±1,42*	12,1±1,02	12,1±1,17	11,5±1,53	12,3±1,22
Длина междоузлий, см	1	0,7±0,03	0,6±0,04*	0,5±0,02*	0,6±0,035*	0,4±0,045	0,4±0,02	0,4±0,03	0,3±0,02
	2	0,9±0,03	0,9±0,04	0,6±0,03*	0,9±0,020	0,5±0,044	0,4±0,03	0,4±0,04	0,4±0,03
	3	1,1±0,06	1,3±0,09*	1,3±0,07*	1,3±0,070	0,8±0,067	0,9±0,10	0,7±0,10	0,7±0,07
Диаметр стебля, мм	3	2,1±0,13	3,5±0,13*	3,5±0,08*	3,4±0,11*	1,90±0,214	1,96±0,111	1,83±0,194	1,95±0,156

Примечание. \* – различия по сравнению с контролем достоверны при  $p \leq 0,05$ .

В конце периода *in vitro* длина стебля и междоузлий у растений обоих видов достоверно не отличались даже при разных вариантах освещения, что, возможно, обусловлено низким уровнем ППФ ( $15 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ ). Так, например, длина стебля у микроклонов осины и березы составляла  $2,3 \pm 0,12$  и  $2,3 \pm 0,01$  см соответственно. На первом этапе адаптации прирост в высоту растений-регенерантов осины контрольного варианта составил  $4,3 \pm 0,27$  см и был на 20–40 % больше, чем у растений, культивируемых при LED-освещении. На втором этапе после 30 сут культивирования *ex vitro* растения осины под светодиодными источниками света стали опережать по длине стебля растения контрольного варианта, и к 60-м суткам (этап 3) длина стебля у них была больше на 35–50 %. Прирост стебля растений осины в высоту к 60-м суткам адаптации составил в среднем 14 и 20–23 см при LL- и LED-освещении соответственно. При этом достоверных отличий в длине стебля при разных вариантах LED-освещения не отмечалось. Спектральный состав всех вариантов LED-освещения отличался от контрольного более высоким (в 3,7 раза) уровнем ДК света и, таким образом, более низким соотношением К/ДК. Также обращают на себя

внимание существенные различия длины стебля растений на всех этапах адаптации под облучателями LL и LED 2. Эти варианты освещения характеризуются наиболее близкими значениями уровня ППФ во всех областях ФАР, кроме ДК-диапазона и, соответственно, соотношения К/ДК (см. табл. 1). Обычно соотношение К/ДК в естественных условиях составляет 0,6–1,3, а его снижение приводит к эффекту «избегания тени» и увеличению высоты растений за счет удлинения междоузлий [17]. Хотя в данной работе соотношение К/ДК было больше 1 при всех вариантах освещения, его снижение привело к существенному увеличению длины стебля. Похожие эффекты отмечены также в работах других исследователей. Например, показано увеличение высоты растений *Petunia hybrida* и *Euphobia pulcherrima* в результате снижения соотношения К/ДК от 3,8 до 1 и от 5,7 до 1 соответственно [17–19].

Средняя длина междоузлий регенерантов осины под светодиодным освещением либо достоверно не отличалась (LED 1), либо была ниже (LED 2 (этапы 1–2), LED 3 (этап 2)) контроля. Увеличение длины междоузлий при всех вариантах LED-освещения по сравнению с контролем только на третьем этапе обусловлено, вероятно, затенением, возникающим в результате более активного образования метамеров, а следовательно, роста и развития листового аппарата.

Диаметр стебля растений осины при LED-освещении превышал в среднем в 1,8 раза этот показатель у растений контрольного варианта, что, возможно, свидетельствует о более развитой системе проводящих и механических тканей, лучшей обеспеченности растений водой и большей их устойчивости к повреждениям (табл. 2).

Реакция растений-регенерантов березы повислой на освещение с различным соотношением физиологически значимых спектральных диапазонов была менее выражена или отсутствовала (табл. 2). Достоверных отличий длины и диаметра стебля, а также длины междоузлий у растений-регенерантов березы повислой, культивируемых при освещении с различными спектральными характеристиками, не отмечалось на протяжении всего периода адаптации. Прирост стебля к 60-м суткам (этап 3) составил в среднем 12 см для всех вариантов, включая контрольный.

Таким образом, растения-регенеранты осины при LED-освещении характеризовались более высокими длиной и диаметром стебля и формировали больше метамеров. Рост растений березы не зависел от спектрального состава освещения (по крайней мере в исследованном диапазоне), от спектральных характеристик и соотношений длин волн.

Главным звеном сложной системы метаболизма, обеспечивающей рост и развитие растений, их адаптивный потенциал и продуктивность в соответствии с генетической программой развития и внешними условиями, являются процессы фотосинтеза и прежде всего формирование основных компонентов ФСА [20]. Ключевой компонент ФСА растений – фотосинтетические пигменты листьев. Нами определено их содержание в листьях растений-регенерантов *in vitro* перед пересадкой, а затем на разных этапах адаптации *ex vitro*. Установлено, что в листьях регенерантов осины при освещении LL, LED 1 и LED 2 количество хлорофиллов (Хл) и каротиноидов существенно увеличивалось в течение всего периода адаптации (рис. 1). Только под LED 3 облучателем (с максимальным содержанием красного света в спектре) на третьем этапе отмечено снижение содержания Хл и каротиноидов по сравнению с предыдущим этапом.

В листьях березы наблюдали рост содержания Хл только в течение первых двух этапов и существенное снижение – на третьем этапе адаптации *ex vitro* при всех вариантах освещения (рис. 2). Менее чувствительным к спектральному составу освещения оказался пул каротиноидов в листьях березы. При этом увеличение доли красного света в спектре (LED 3) приводило к снижению интенсивности роста содержания фотосинтетических пигментов в течение периода адаптации растений регенерантов обоих видов.

Установлено также более высокое содержание Хл *a*, Хл *b*, суммы Хл и каротиноидов в листьях растений обоих видов при освещении LED 1 (с наиболее высоким уровнем ППФ в диапазоне 400–500 нм) и в условиях *in vitro*, и в течение периода адаптации *ex vitro* по сравнению с другими LED-вариантами. Снижение уровня синего и увеличение уровня красного света в спектре светодиодного излучения (LED 2 и LED 3) приводило к уменьшению содержания фотосинтетических пигментов. При этом для регенерантов осины следует отметить более выраженные различия в количестве фотосинтетических пигментов в зависимости от спектрального состава LED-освещения. При сравнении вариантов LL и LED 2 выявлено достоверное снижение

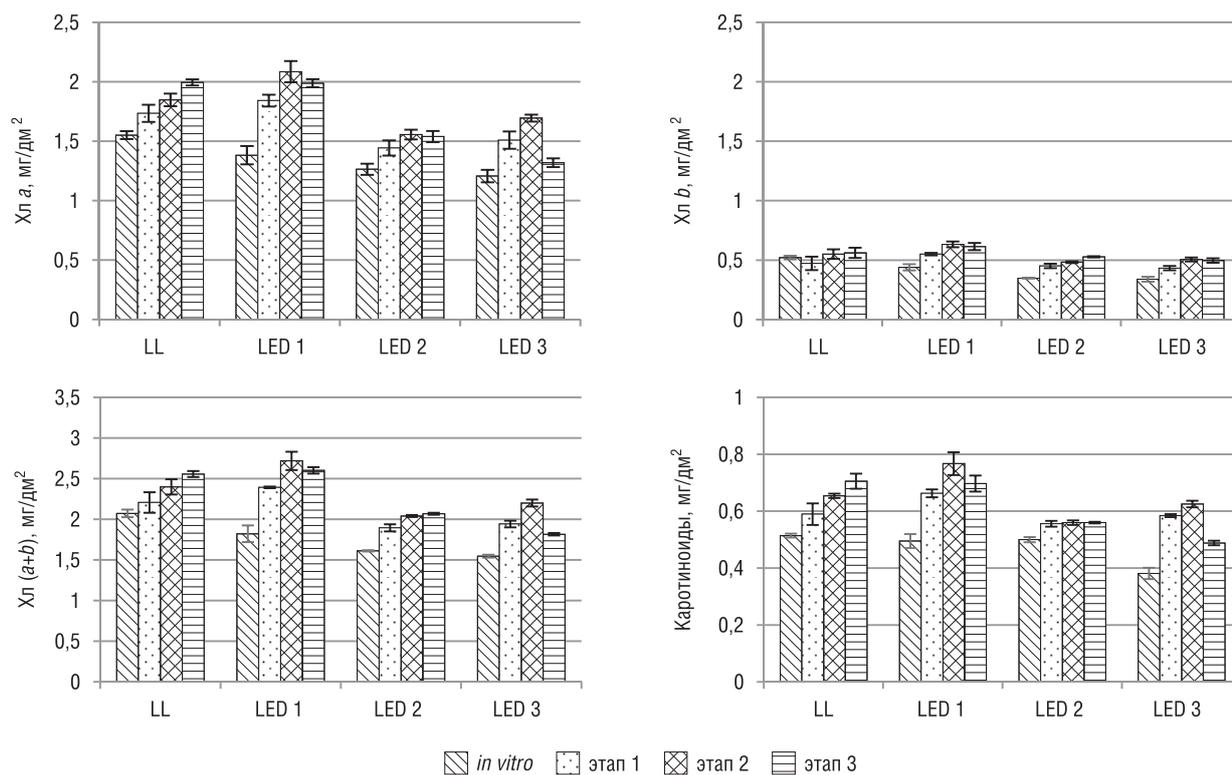


Рис. 1. Содержание фотосинтетических пигментов в листьях растений-регенерантов осины при адаптации *ex vitro*

Fig. 1. The content of photosynthetic pigments in the leaves of regenerated plants of aspen during *ex vitro* adaptation

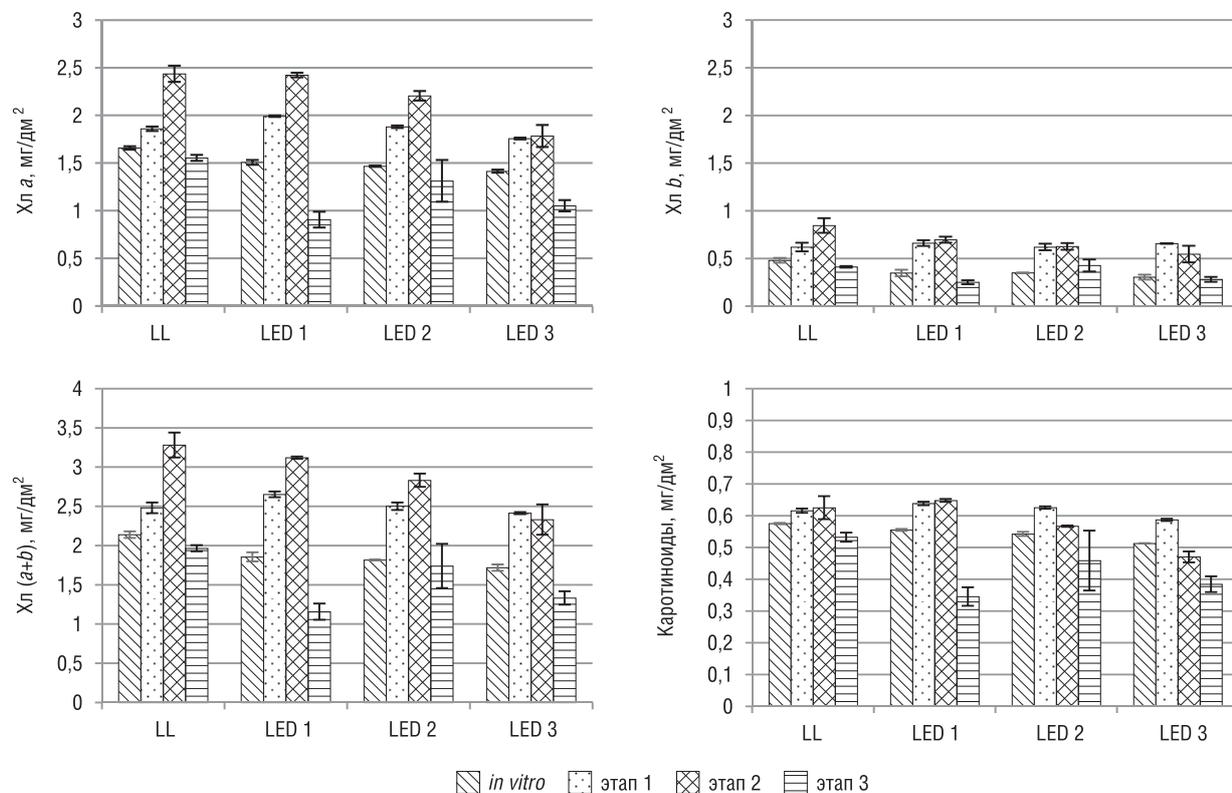


Рис. 2. Содержание фотосинтетических пигментов в листьях растений-регенерантов березы повислой при адаптации *ex vitro*

Fig. 2. The content of photosynthetic pigments in the leaves of regenerated plants of birch during *ex vitro* adaptation

уровня Хл (особенно Хл *a*), но не каротиноидов в листьях регенерантов обоих видов растений при снижении соотношения К/ДК в спектре освещения (см. рис. 1, 2). Более выраженные эффекты света с различным спектральным составом на содержание пигментов в листьях осины согласуются с вышеописанными закономерностями влияния освещения на рост регенерантов (см. табл. 2) и свидетельствуют о более высокой чувствительности фоторецепторного аппарата регенерантов осины к исследуемым спектральным диапазонам.

В ряде работ также показана стимуляция образования Хл при освещении растений синим светом [21–23]. Так, в культуре *in vitro* *Dendrobium officinale* содержание Хл при использовании синих светодиодов было в 3 раза выше, чем при облучении растений красными светодиодами [21]. Кроме того, установлено, что на синем свету или с его преобладанием в спектре микроклонально размноженные растения хлопчатника обыкновенного *Gossypium hirsutum* L. характеризовались самым высоким содержанием Хл, а на красном свету его количество было ниже, но при этом происходило активное образование сахарозы и крахмала [22]. Повышенный синтез крахмала в условиях облучения красным светом на фоне снижения образования Хл, а также влияние спектрального состава освещения на структуру фотосинтетического аппарата были показаны и в культуре *in vitro* березы повислой Saebo с соавт. [23].

Известно, что свет различных длин волн, активируя системы соответствующих белков-фоторецепторов, регулирует большинство параметров морфогенеза, в том числе формирование листовой пластинки. В данной работе показано, что растения-регенеранты, выращиваемые при LED-освещении, также отличались по площади листовой пластинки от растений контрольного варианта, особенно на втором и третьем этапах адаптации *ex vitro*. Так, на первом этапе адаптации на 14-е сутки площадь листьев регенерантов осины варианта LED 1 была больше на 54 %, чем у растений варианта LL. На втором этапе на 30-е сутки средняя площадь листа растений осины всех опытных вариантов в 2–3 раза превышала контроль (рис. 3, *a*). К 40-м суткам площадь листьев у растений всех вариантов достигала максимума (данные не приведены) и затем сохранялась до конца третьего этапа адаптации (60-е сутки) (рис. 3, *a*). К этому времени площадь листьев растений варианта LED 1 (большая доля синего света в спектре) превышала в 1,5 раза данный показатель у растений варианта LL, а у растений вариантов LED 2 и LED 3 (большая доля красного света в спектре) – в 2 раза.

Достоверные отличия между растениями-регенерантами березы светодиодных и контрольного вариантов обнаружены только на 30-е сутки адаптации (этап 2) – площадь листьев при LED-освещении была выше в среднем на 20 %, а достоверные отличия между LED 1, LED 2 и LED 3 не выявлены (рис. 3, *b*).

Сравнение между собой растений-регенерантов осины, культивируемых при LED-освещении, показало, что площадь листьев была тем больше, чем ниже был уровень синего света и выше – красного, а следовательно, соотношений К/С, К/С + 3 и К/ДК. Площадь листьев регенерантов березы от спектрального состава LED-освещения практически не зависела.

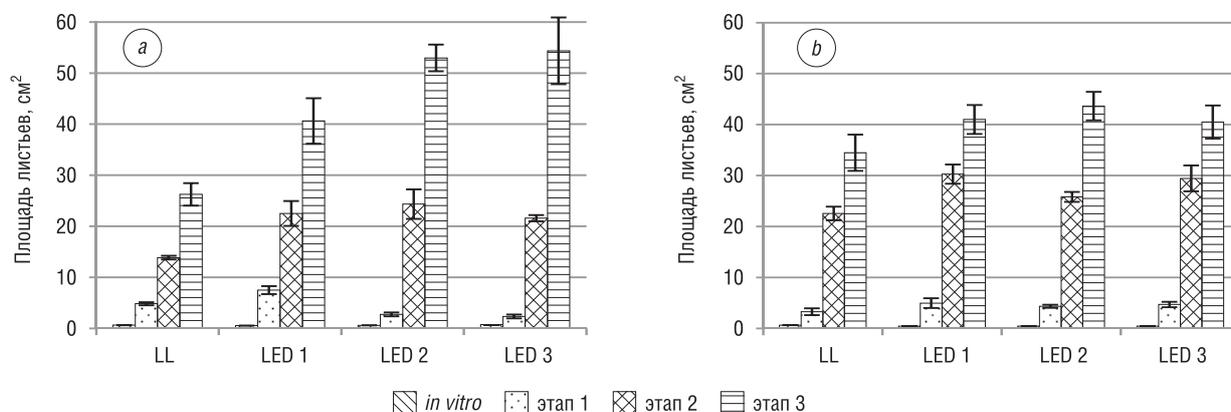


Рис. 3. Площадь листьев растений-регенерантов осины (*a*) и березы повислой (*b*), культивируемых при различных вариантах освещения

Fig. 3. Leaves area of regenerated plants of aspen (*a*) and birch (*b*) cultivated under various lighting options

Показатель УППЛ показывает уровень накопления сухого вещества в листе и косвенно характеризует толщину листовой пластинки. Часто данный параметр положительно коррелирует с интенсивностью фотосинтеза [15]. Максимальным значением показателя УППЛ в данной работе характеризовались растения-регенеранты осины варианта LED 1 (с самым высоким содержанием синего света в спектре) (рис. 4). В свою очередь, у регенерантов при LED 2 и LED 3 освещении УППЛ снижался с увеличением соотношений К/С, К/(С + З) и К/ДК в спектре. Таким образом, чем меньше была листовая пластинка, тем выше УППЛ. У березы повислой отмечалась аналогичная тенденция изменения средних значений УППЛ, однако различия не были достоверны.

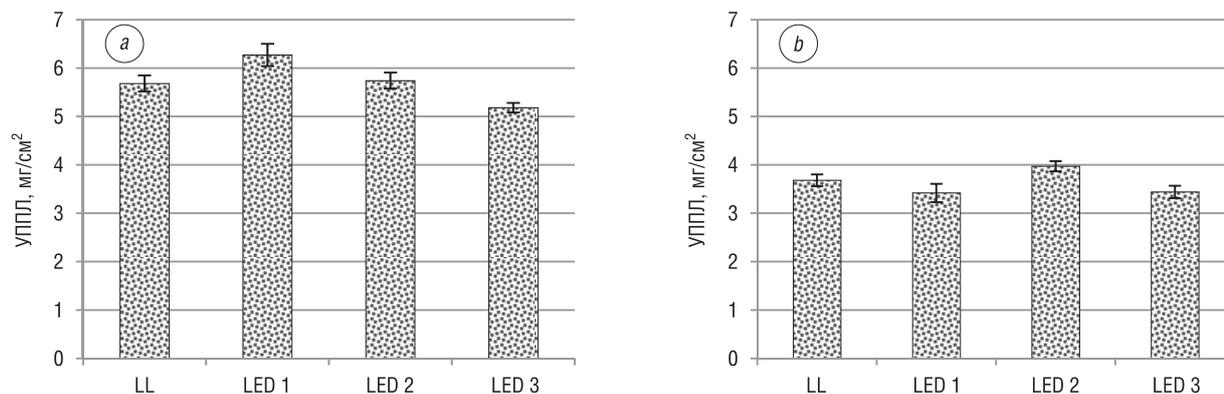


Рис. 4. Удельная поверхностная площадь листьев растений-регенерантов осины (а) и березы повислой (б), культивируемых при различных вариантах освещения на третьем этапе адаптации

Fig. 4. Specific surface area of the leaves of regenerated plants of aspen (a) and birch (b) cultivated under various lighting options in the third stage of adaptation

Таким образом, можно выделить следующие закономерности формирования ФСА растений-регенерантов осины *ex vitro* при разных условиях LED-освещения:

имеется обратная зависимость между содержанием Хл в листьях и площадью листовой пластинки растений осины;

у регенерантов осины при освещении LED 1 самое высокое содержание фотосинтетических пигментов, УППЛ, но меньшая листовая пластинка по сравнению с растениями при освещении LED 2 и LED 3.

Процесс формирования ФСА березы оказался значительно менее чувствительным к изменениям спектрального состава LED-излучения: различия в содержании Хл, площади листовой пластинки и УППЛ между растениями разных вариантов практически отсутствуют. Возможно, это связано с более высоким содержанием в листьях осины структур, поглощающих синий свет, относящихся к пигментам фенольной природы, например антоцианам [24], а следовательно, с лучше развитой системой регуляции их биосинтеза.

**Заключение.** В результате проведенных исследований установлено, что растения-регенеранты *Populus tremula* L. в условиях адаптации *ex vitro* при LED-освещении характеризовались большим диаметром стебля, формировали больше метамеров и, следовательно, больше листьев. Отмечены хорошо выраженные различия в содержании фотосинтетических пигментов листьев микроклонов осины в зависимости от спектрального состава LED-освещения: увеличение К/С, (К/С + З) и К/Д в спектре от 1 до 4, от 0,8 до 2 и от 3,3 до 5,1 соответственно приводило к значительному уменьшению их количества. Площадь листьев у регенерантов осины была тем больше, чем ниже был уровень синего света и выше – красного. Таким образом, растения-регенеранты осины обыкновенной при соотношениях К/С, К/(С + З) и К/ДК, равным 4; 2; 5,1 соответственно, характеризовались самыми низкими содержанием фотосинтетических пигментов и УППЛ, но большей листовой пластинкой, чем растения двух других LED-вариантов.

Эффекты влияния освещения исследуемых спектральных диапазонов на рост и формирование ФСА растений березы были выражены меньше или отсутствовали. Содержание фотосинтетических пигментов и площадь листьев регенерантов березы от спектрального состава LED-освещения зависели в меньшей степени, чем у осины.

Таким образом, установлены особенности влияния LED-освещения различного спектрального состава с варьируемыми соотношениями физиологически значимых спектральных диапазонов (К/С, К/(С + 3), К/ДК) на формирование метамеров, диаметр стебля, УППЛ, пигментный состав и площадь листовой пластинки микроклонально размноженных растений осины обыкновенной и березы повислой в течение периода адаптации к условиям *ex vitro*.

#### Список использованных источников

1. Стратегия адаптации лесного хозяйства Республики Беларусь к изменению климата на период до 2050 года / М-во лес. хоз-ва Респ. Беларусь, Ин-т эксперим. ботаники НАН Беларуси, Ин-т леса НАН Беларуси, НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам, ГУ «Беллесозащита». – Минск, 2011. – 119 с.
2. Цыганов, А.Р. Биоэнергетика: энергетические возможности биомассы / А.Р. Цыганов, А.В. Клочков. – Минск : Беларус. навука, 2012. – 143 с.
3. Silviculture of birch (*Betula pendula* Roth. and *Betula pubescens* Ehrh.) in Northern Europe / J. Hynynen [et al.] // Forestry. – 2008. – Vol. 83, N 1. – P. 103–119. <https://doi.org/10.1093/forestry/cpp035>
4. Acclimatization of micropropagated plants to *ex vitro* conditions: review / J. Pospóšilová [et al.] // Biologia Plantarum. – 1999. – Vol. 42, N 4. – P. 481–497. <https://doi.org/10.1023/A:1002688208758>
5. Kumar, K. Morphophysiological problems in acclimatization of micropropagated Plants in – *ex vitro* conditions: a review / K. Kumar, I. U. Rao // J. Ornament. Hortic. Plants. – 2012. – Vol. 2, N 4. – P. 271–283.
6. Furuya, M. Phytochromes: their molecular species, gene family and functions / M. Furuya // Ann. Rev. Plant Phys. Plant Mol. Biol. – 1993. – Vol. 44, N 1. – P. 617–645. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.44.060193.003153>
7. Lin, C. Cryptochrome structure and signal transduction / C. Lin, D. Shalitin // Ann. Rev. Plant Biol. – 2003. – Vol. 54, N 1. – P. 469–496. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.54.110901.160901>
8. The phototropin family of photoreceptors / W.R. Briggs [et al.] // Plant Cell. – 2001. – Vol. 13, N 5. – P. 993–997. <https://doi.org/10.1105/tpc.13.5.993>
9. Gupta, S.D. Fundamentals and applications of light-emitting diodes (LEDs) in in vitro plant growth and morphogenesis: review / S.D. Gupta, B. Jatothu // Plant Biotechnol. Rep. – 2013. – Vol. 7, N 3. – P. 211–220. <https://doi.org/10.1007/s11816-013-0277-0>
10. LED-освещение в производстве продукции растениеводства закрытого грунта / О.В. Молчан [и др.] // Наука и инновации. – 2017. – № 12. – С. 38–43.
11. Кулагин, Д.В. Разработка схемы акклиматизации микрорастений осины (*Populus tremula* L.) к условиям *ex vitro* / Д.В. Кулагин, А.В. Константинов, Е.Н. Химченко // Сб. науч. тр. / Ин-т леса НАН Беларуси. – Гомель, 2011. – Вып. 71 : Проблемы лесоведения и лесоводства. – С. 279–287.
12. Owen, H.R. An examination and correction of plant tissue culture basal medium formulations / H.R. Owen, A.R. Miller // Plant Cell Tiss. Organ Cult. – 1992. – Vol. 28, N 2. – P. 147–150. <https://doi.org/10.1007/BF00055509>
13. Установить спектры и плотность потока квантов светодиодного излучателя, позволяющие оптимизировать производственный процесс эксплантов голубики и розы : отчет о НИР (заключ.) / Ин-т эксперим. ботаники НАН Беларуси ; рук. В.Г. Реуцкий. – Минск, 2014. – 84 с.
14. Wettstein, D. Formula of chlorophyll determination / D. Wettstein // Exp. Cell Res. – 1957. – Vol. 12, N 3. – P. 427–489.
15. Терминология количественных характеристик при изучении роста, продуктивности и фотосинтеза сельскохозяйственных растений : метод. указания / Акад. с.-х. наук, НИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова ; сост. : М.И. Зеленский, О.Д. Быков. – Ленинград, 1982. – 45 с.
16. Рокицкий, П.Ф. Биологическая статистика / П.Ф. Рокицкий. – Минск : Выш. шк., 1973. – 320 с.
17. Plant responses to red and far-red lights, applications in horticulture / S. Demotes-Mainard [et al.] // Environ. Exp. Bot. – 2016. – Vol. 121. – P. 4–21. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2015.05.010>
18. Far-red light filtering by plastic film, greenhouse-cladding materials: effects on growth and flowering in *Petunia* and *Impatiens* / J.M. Fletcher [et al.] // J. Hortic. Sci. Biotechnol. – 2005. – Vol. 80, N 3. – P. 303–306. <https://doi.org/10.1080/14620316.2005.11511934>
19. Mata, D.A. Manipulation of light environment to produce highquality poinsettia plants / D.A. Mata, J.F. Botto // HortSci. – 2009. – Vol. 44, N 3. – P. 702–706. <https://doi.org/10.21273/hortsci.44.3.702>
20. Регуляция первичных стадий фотосинтеза при изменении физиологического состояния растений / А.А. Рубин [и др.] // Фотосинтез и производственный процесс / отв. ред. А.А. Ничипорович. – М., 1988. – С. 24–39.
21. Effects of light quality on growth and development of protocorm-like bodies of *Dendrobium officinale* *in vitro* / Y. Lin [et al.] // Plant Cell, Tiss Organ Cult. – 2011. – Vol. 105, N 3. – P. 329–335. <https://doi.org/10.1007/s11240-010-9871-9>
22. Li, H. Effect of light-emitting diodes on growth and morphogenesis of upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.) plantlets *in vitro* / H. Li, Z. Xu, C. Tang // Plant Cell Tiss Organ Cult. – 2010. – Vol. 103, N 2. – P. 155–163. <https://doi.org/10.1007/s11240-010-9763-z>
23. Saebo, A. Light quality affects photosynthesis and leaf anatomy of brich plantlets *in vitro* / A. Saebo, T. Krekling, M. Appelgren // Plant Cell, Tiss. Organ Cult. – 1995. – Vol. 41, N 2. – P. 177–185. <https://doi.org/10.1007/bf00051588>

24. The transcriptome of *Populus* in elevated CO<sub>2</sub> reveals increased anthocyanin biosynthesis during delayed autumnal senescence / M. J. Tallis [et al.] // *New Phytologist*. – 2010. – Vol. 186, N 2. – P. 415–428. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03184.x>

## References

1. *Strategy of adaptation of forestry of the Republic of Belarus to climate change for the period till 2050*. Minsk, Ministry of Forestry of the Republic of Belarus, 2011. 119 p. (in Russian).
2. Tsyganov A. R., Klochkov A. V. *Bioenergy: biomass energy potential*. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2012. 143 p. (in Russian).
3. Hynynen J., Niemistö P., Viherä-Aarnio A., Brunner A., Hein S., Velling P. Silviculture of birch (*Betula pendula* Roth. and *Betula pubescens* Ehrh.) in Northern Europe. *Forestry*, 2008, vol. 83, no. 1, pp. 103–119. <https://doi.org/10.1093/forestry/cpp035>
4. Pospóšilová J., Tichá I., Kadleček P., Haisel D., Plzánková Š. Acclimatization of micropropagated plants to *ex vitro* conditions: review. *Biologia Plantarum*, 1999, vol. 42, no. 4, pp. 481–497. <https://doi.org/10.1023/A:1002688208758>
5. Kumar K., Rao I. U. Morphophysiological problems in acclimatization of micropropagated plants in – *ex vitro* conditions: a review. *Journal of Ornamental and Horticultural Plants*, 2012, vol. 2, no. 4, pp. 271–283.
6. Furuya M. Phytochromes: their molecular species, gene family and functions. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1993, vol. 44, no. 1, pp. 617–645. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.44.060193.003153>
7. Lin C., Shalitin D. Cryptochrome structure and signal transduction. *Annual Review of Plant Biology*, 2003, vol. 54, no. 1, pp. 469–496. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.54.110901.160901>
8. Briggs W. R., Beck C. F., Cashmore A. R., Christie J. M., Hughes J., Jarillo J. A. [et al.]. The phototropin family of photoreceptors. *Plant Cell*, 2001, vol. 13, no. 5, pp. 993–997. <https://doi.org/10.1105/tpc.13.5.993>
9. Gupta S. D., Jatothu B. Fundamentals and applications of light-emitting diodes (LEDs) in *in vitro* plant growth and morphogenesis: review. *Plant Biotechnology Reports*, 2013, vol. 7, no. 3, pp. 211–220. <https://doi.org/10.1007/s11816-013-0277-0>
10. Molchan O. V., Obukhovskaya L. V., Trofimov Yu. V., Pugachevskii A. V. LED-lighting in the production of greenhouse crop production *Nauka i innovatsii = Science and innovations*, 2017, no. 12, pp. 38–43 (in Russian).
11. Kulagin D. V., Konstantinov A. V., Khimchenko E. N. Development of the scheme for acclimatization of aspen microplants (*Populus tremula* L.) to *ex vitro* conditions. *Sbornik nauchnykh trudov Instituta lesa Natsional'noi akademii nauk Belarusi* [Collection of scientific papers of the Forest Institute of the National Academy of Sciences of Belarus]. Gomel', 2011, iss. 71, pp. 279–287 (in Russian).
12. Owen H. R., Miller A. R. An examination and correction of plant tissue culture basal medium formulations. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 1992, vol. 28, no. 2, pp. 147–150. <https://doi.org/10.1007/BF00055509>
13. *Establish the spectra and flux density of quanta of the LED emitter, allowing to optimize the production process of blueberry and rose explants*. Minsk, 2014. 84 p.
14. Wettstein D. Formula of chlorophyll determination. *Experimental Cell Research*, 1957, vol. 12, no. 3, pp. 427–489.
15. *Terminology of quantitative characteristics in the study of growth, productivity and photosynthesis of agricultural plants*. Leningrad, 1982. 45 p. (in Russian).
16. Rokitskii P. F. *Biological statistics*. 3rd ed. Minsk, Vysheishaya shkola Publ., 1973. 320 p. (in Russian).
17. Demotes-Mainarda S., Pérona T., Corot A., Bertheloot J., Gourrierc J., Pelleschi-Travierb S. [et al.]. Plant responses to red and far-red lights, applications in horticulture. *Environmental and Experimental Botany*, 2016, vol. 121, pp. 4–21. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2015.05.010>
18. Fletcher J. M., Tatsiopoulou, A., Mpezamihigo M., Carew J. G., Henbest R. G. C., Hadley P. Far-red light filtering by plastic film, greenhouse-cladding materials: effects on growth and flowering in *Petunia* and *Impatiens*. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 2005, vol. 80, no. 3, pp. 303–306. <https://doi.org/10.1080/14620316.2005.11511934>
19. Mata D. A., Botto J. F. Manipulation of light environment to produce highquality poinsettia plants. *HortScience*, 2009, vol. 44, no. 3, pp. 702–706. <https://doi.org/10.21273/hortsci.44.3.702>
20. Rubin A. B., Venediktov P. S., Krendeleva T. E., Pashchenko V. Z. Regulation of the primary stages of photosynthesis with a change in the physiological state of plants. *Fotosintez i produkcionnyi process* [Photosynthesis and production process], Moscow, 1988, pp. 24–39 (in Russian).
21. Lin Y., Li J., Li B., He T. Effects of light quality on growth and development of procorm-like bodied of *Dendrobium officinale* *in vitro*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2011, vol. 105, no. 3, pp. 329–335. <https://doi.org/10.1007/s11240-010-9871-9>
22. Li H., Xu Z., Tang C. Effect of light-emitting diodes on growth and morphogenesis of upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.) plantlets *in vitro*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2010, vol. 103, no. 2, pp. 155–163. <https://doi.org/10.1007/s11240-010-9763-z>
23. Saebo A., Krekling T., Appelgren M. Light quality affects photosynthesis and leaf anatomy of birch plantlets *in vitro*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 1995, vol. 41, no. 2, pp. 177–185. <https://doi.org/10.1007/BF00051588>
24. Tallis M. J., Lin Y., Rogers A., Zhang J., Street N. R., Miglietta F., Karnosky D. F., De Angelis P., Calfapietra C., Taylor G. The transcriptome of *Populus* in elevated CO<sub>2</sub> reveals increased anthocyanin biosynthesis during delayed autumnal senescence. *New Phytologist*, 2010, vol. 186, no. 2, pp. 415–428. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03184.x>

### Информация об авторах

*Куделина Татьяна Николаевна* – науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: 10tan10@mail.ru

*Константинов Андрей Вячеславович* – науч. сотрудник. Институт леса НАН Беларуси (ул. Пролетарская, 71, 246001, г. Гомель, Республика Беларусь). E-mail: avkonstantinof@mail.ru

*Обуховская Людмила Владимировна* – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: olv\_8@mail.ru

*Молчан Ольга Викторовна* – канд. биол. наук, доцент, заведующий лабораторией. Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: olga\_molchan@mail.ru

### Information about the authors

*Tatiana N. Kudelina* – Researcher. V.F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: 10tan10@mail.ru

*Andrei V. Konstantinov* – Researcher. Forest Institute of the National Academy of Sciences of Belarus (71, Proletarskaya Str., 246001, Gomel, Republic of Belarus). E-mail: avkonstantinof@mail.ru

*Lyudmila V. Obukhovskaya* – Ph. D. (Biol.), Leading researcher. V.F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: olv\_8@mail.ru

*Olga V. Molchan* – Ph. D. (Biol.), Assistant professor, Head of the Laboratory. V.F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: olga\_molchan@mail.ru