

Оценка засухоустойчивости декоративных форм тополей в культуре *in vitro*

А. А. ЭРСТ, А. В. КАРАКУЛОВ

ФГБУН Центральный сибирский ботанический сад СО РАН
630090, Новосибирск, ул. Золотодолинская, 101
E-mail: erst_aa@csbg-nsk.ru, krk@inbox.ru

Статья поступила 20.11.2022

После доработки 27.12.2022

Принята к печати 14.01.2023

АННОТАЦИЯ

Исследована устойчивость растений-регенерантов *Populus alba* × *P. bolleana* № 7, *P. alba* × *P. bolleana* № 12 и *P. davidiana* × *P. bolleana* св. Байчен-1 к осмотическому стрессу в условиях *in vitro*. Показано, что гибрид № 7 выдерживает до 250 мМ d-маннитола, тогда как сорт Байчен-1 только до 50 мМ d-маннитола в питательной среде после 30-дневного периода культивирования. Гибрид № 12 сохраняет жизнеспособность при концентрации d-маннитола до 150 мМ. Использование d-маннитола достоверно снижало параметры листовой пластинки (длина, ширина, площадь листа) только у гибрида № 7, для остальных образцов различия были недостоверными ($p < 0,05$). Внесение осмотического компонента приводило к снижению сырого и сухого веса всех изучаемых образцов в 1,7–2,2 раза, при этом оводненность тканей практически не изменялась. Результаты настоящего исследования были подтверждены микроморфологическими параметрами (устычный аппарат и опушение) в отношении засухоустойчивости. Тополь Байчен-1 характеризуется самым слабым опушением и наибольшей плотностью устьиц (155,44 шт./мм²), тополь № 7 – наиболее густым опушением и наименьшим количеством устьиц на единицу площади (127,75 шт./мм²). Не выявлено прямой зависимости между воздействием осмотического стресса и количеством и размерами устьиц у изучаемых образцов. Нами показано, что изучаемые гибриды тополя обладают разной устойчивостью к осмотическому стрессу в условиях *in vitro*. Более толерантный к засухе гибрид № 7 может быть рекомендован для озеленения городских территорий в условиях аридного климата.

Ключевые слова: *Populus*, *in vitro* размножение, d-маннитол, *in vitro* отбор, устьица, опушение.

ВВЕДЕНИЕ

Проблема глобального потепления связана наряду с удлинением вегетационного периода, что можно рассматривать как положительное явление для множества интродуци-

рованных растений, и с таким явлением как аридизация климата. Ранее основным фактором, ограничивающим жизнеспособность и рост растений при интродукции в районы Азиатской России, рассматривалась их

устойчивость к суровым зимним условиям (зимо- и морозостойкость). В настоящее время проблема аридизации также выходит на первый план – более раннее снеготаяние, значительное сокращение осадков в ранневесенний период, длительная осенняя засуха существенно влияют на продолжительность и смену фенофаз аборигенных видов и интродуцентов [Фомин, Фомина, 2021]. Засуха считается одним из наиболее значимых факторов, ограничивающих рост и продуктивность деревьев [Anderegg et al., 2013]. Для борьбы с данным видом стресса различные виды деревьев разработали ряд механизмов, включая изменения в архитектуре корней, ограничение роста и повышение эффективности использования воды [Polle et al., 2019].

Род *Populus* L. включает в себя около 30 видов, произрастающих в умеренной зоне Северного полушария. В связи с быстрым ростом, легкостью вегетативного размножения тополь широко используется во многих странах в озеленении населенных пунктов, защитном и промышленном плантационном лесоразведении [Erst et al., 2014; Эрст, Банаев, 2021]. Одной из наиболее важных задач селекции декоративных форм тополя является создание растений, устойчивых к биотическим и абиотическим факторам городской среды. Отбор адаптированных, высокопродуктивных, устойчивых генотипов является длительным и многоэтапным процессом. Технология оценки и отбора растений в культуре *in vitro*, устойчивых к неблагоприятным факторам, имеет ряд преимуществ по сравнению с традиционными методами: осуществляется в строго контролируемых условиях (физические и химические факторы), позволяет проводить селекцию большого числа генотипов за короткое время и на небольшой площади [Ostry, 1997]. Таким образом, скрининг древесных пород *in vitro* может служить важной альтернативой для отбора образцов, устойчивых к стрессу, в том числе к водному.

Настоящее исследование было сосредоточено на изучении влияния d-маннитола (агента, вызывающего осмотический стресс) на показатели роста трех перспективных для озеленения сибирских городов гибридов тополя – *Populus alba* × *P. bolleana* № 7, *P. alba* × *P. bolleana* № 12 и *P. davidiana* × *P. bolleana* cv. Байчен-1. Кроме того, были исследованы от-

дельные морфологические параметры, включая особенности устьичного аппарата и опущения, связанные с устойчивостью к засухе.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектами исследований служили быстрорастущие, зимостойкие, декоративные гибриды тополя.

Populus alba × *P. bolleana* № 12 – тополь Сибирский серебристый № 12 (♀) получен в 1980 г. от скрещивания *P. alba* L. (из поймы Оби, Россия) с *P. bolleana* Lauche. Стройное декоративное дерево с прямым стволом и узкой цилиндрической кроной. В 6 лет высота 7,4 м, в 20 лет – 20,6 м. Сравнительно засухоустойчив, газоустойчив, не повреждается ржавчиной. Укоренение зимних (одревесневших) стеблевых черенков в открытом грунте достигает максимально 65 % [Бакулин, 2012].

P. alba × *P. bolleana* № 7 – тополь Сибирский серебристый № 7 (♂) получен в 1980 г. от той же комбинации скрещивания, что и Сибирский серебристый № 12. Декоративное дерево с прямым стволом и пирамидальной кроной. В 20 лет высота 18,5 м. Укореняемость зимних стеблевых черенков невысока – около 53 % [Бакулин, 2012].

P. davidiana × *P. bolleana* cv. Байчен-1 – тополь Байчен-1 (♀) получен учеными Байченской академии сельского хозяйства (г. Байчен, КНР) от скрещивания *P. davidiana* Dode с *P. bolleana*. Характеризуется гипоаллергенными свойствами, поскольку семена не имеют пуха, что делает этот гибрид ценной породой для использования в озеленении городов.

Культуру микропобегов поддерживали в среде Мурасиге и Скуга (MS) [Murashige, Skoog, 1962], содержащую 3,0 % сахарозу и 0,6 % агар (базовая среда MS) и с добавлением 5 мкМ 6-бензиламинопурина и 200 мг/л гидролизата казеина (среда MS4) [Erst et al., 2014]. Для укоренения микропобегов использовалась среда 1/2 MS с добавлением 5 мкМ индолил-3-масляной кислоты (среда MS10) [Erst et al., 2014]. Растения выращивали при 25 ± 1 °C в условиях фотопериода (16/8) с интенсивностью 3000 люкс с холодным люминесцентным освещением.

Скрининг растений-регенерантов гибридов *Populus* проводили путем культивирования в конических пластиковых пробирках объе-

мом 50 мл с вентилируемыми крышками в 10 мл жидкой среды MS10, содержащей различные концентрации d-маннитола (50, 100, 150, 250 и 500 мМ). Контролем послужила среда без d-маннитола.

Параметры роста и развития регенерантов измеряли через 30 дней культивирования с использованием следующих показателей: 1. Длина побегов (см). 2. Количество листьев (шт.). 3. Площадь листовой пластинки (мм²). 4. Фактор удлинения (ФУ) – соотношение длины к ширине листа. 5. Сырая масса побегов (FW, мг). 6. Сухая масса побегов (DW, мг). 7. Коэффициент увлажнения (БК, %). БК рассчитан как соотношение (FW–DW) к FW. 8. Плотность устьиц (количество устьиц на площадь, шт./мм²). 9. Длина устьиц (мкм). 10. Эффективность засухоустойчивости (DTE). DTE рассчитан как отношение среднего значения жизнеспособности регенерантов пяти обработок d-маннитола (50, 100, 150, 250 и 500 мМ) к контролю.

Растения, у которых отмирала верхушечная почка, но развивалась одна из боковых, считали жизнеспособными.

Морфологию поверхности листа изучали с использованием сканирующего электронного микроскопа (СЭМ) Hitachi TM1000 (Hitachi, Япония) при 10 кВ. Для этого листья образцов сушили в фильтровальной бумаге под прессом до полного высыхания, затем брали образец 5 × 5 мм из средней абаксиальной части листа, помещали на алюминиевый столик, закрепляя образец двухсторонним токопроводящим скотчем.

Обработку фотографий листьев проводили с использованием системы для получения и обработки изображений SIAMS Photolab (НПФ АВЭК, Россия). Количество устьиц подсчитывали непосредственно на экране монитора и пересчитывали в показатель плотности устьиц. Для каждой обработки подсчитывали устьица 30 полей (10 растений по три участка). Длину устьичных клеток измеряли на 10 устьицах с растения.

Статистическую обработку результатов и анализ полученных данных выполняли с использованием программы Microsoft Excel 7.0 и Statistica 6.0 (тест Дункана, факторный дисперсионный анализ ANOVA, $p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Гибриды тополя проявили различную жизнеспособность на средах с d-маннитолом. Наибольшим значением DTE характеризовался гибрид № 7, наименьшим – сорт Байчен-1 (рис. 1, 2). Одно растение тополя № 7 было жизнеспособным на среде с 500 мМ d-маннитола. Все растения изучаемых гибридов были жизнеспособны на питательных средах, содержащих 50 мМ d-маннитола. Увеличение концентрации осмотического компонента в питательной среде до 100 мМ приводило к частичной гибели растений и хлорозу листьев. Использование d-маннитола достоверно уменьшало параметры листовой пластинки (длина, ширина, площадь листа) только у гибрида № 7, для остальных образцов различия оказались недостоверными ($p < 0,05$). Внесение

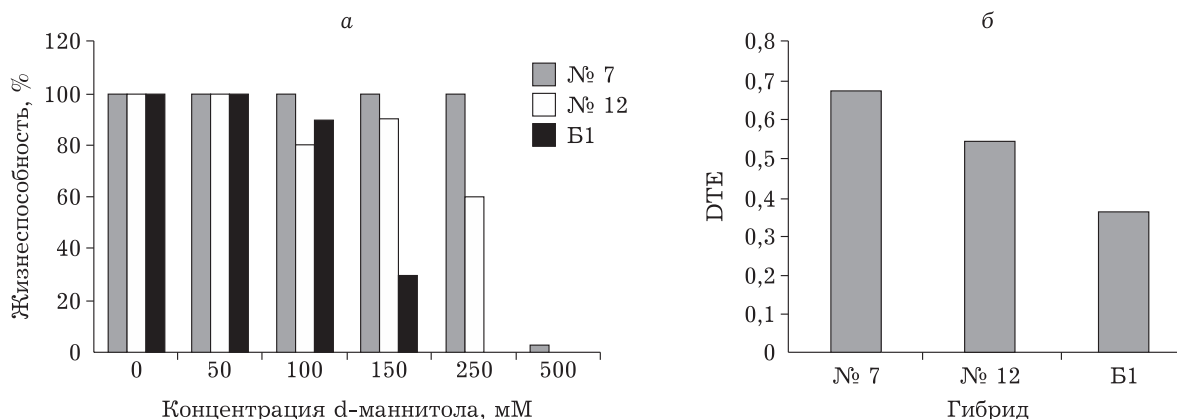


Рис. 1. Жизнеспособность (а) и DTE (б) гибридов тополя под воздействием осмотического стресса, вызванного d-маннитолом в условиях *in vitro*. № 7 – *Populus alba* × *P. bolleana* № 7; № 12 – *P. alba* × *P. bolleana* № 12; B1 – *P. davidiana* × *P. bolleana* cv. Байчен-1



Рис. 2. Внешний вид растений-регенерантов тополей под воздействием d-маннитола в культуре *in vitro*: (a1–a6) – *Populus alba* × *P. bolleana* № 7; (б1–б4) – *P. alba* × *P. bolleana* № 12; (в1, в2) – *P. davidiana* × *P. bolleana* cv. Байчен-1. Концентрация d-маннитола: 1 – контроль, 2–50 мМ, 3–100 мМ, 4–150 мМ, 5–250 мМ, 6–500 мМ. Линейка: 10 мм

осмотического компонента снижало сырой и сухой вес всех изучаемых образцов в 1,7–2,2 раза, при этом оводненность тканей практически не изменялась (табл. 1). Факторный анализ показал, что внесение d-маннитола

в питательную среду влияет на все изучаемые макропризнаки, кроме длины и ширины листа и ФУ, форма изучаемых гибридов достоверно не влияет только на параметр ФУ, а оба фактора не оказывают достоверного влияния

Т а б л и ц а 1

Средние значения параметров роста и развития растений-регенерантов при различных обработках d-маннитолом (О) для трех гибридов *Populus* (Г)

Гибрид	d-ман- нитол, мм	Количе- ство ли- стьев, шт.	Длина листа, мм	Ширина листа, мм	ФУ	Площадь листа, мм ²	Сырой вес, мг	Сухой вес, мг	ВК, %
№ 7	0	9,20a	26,06a	15,42a	0,61a	269,28a	0,47a	0,102a	77,90ab
	50	8,00a	17,81b	9,48bc	0,57a	116,28b	0,28b	0,055b	80,44a
	100	7,44a	20,14b	11,57b	0,59a	148,24b	0,29b	0,063b	77,60ab
	150	8,86a	15,70b	7,78c	0,53a	77,56b	0,21b	0,047b	77,17b
№ 12	0	7,56a	14,12a	7,53a	0,57a	66,82a	0,22a	0,044a	80,19a
	50	7,40a	16,42a	8,67a	0,54ab	92,18a	0,17ab	0,034ab	80,13a
	100	7,38a	15,15a	6,87a	0,45b	70,46a	0,14b	0,028b	78,35a
Б1	0	13,10a	20,05a	1039a	0,53a	143,96a	0,76a	0,154a	79,56b
	50	10,43b	20,44a	10,27a	0,51a	132,90a	0,44b	0,072b	82,76a
О	*	ns	ns	ns	*	*	*	*	*
	p = 0,00640	p = 0,1509	p = 0,0648	p = 0,6902	p = 0,0196	p = 0,0001	p = 0,0001	p = 0,0001	p = 0,00290
Г	*	*	*	ns	*	*	*	*	*
	p = 0,00001	p = 0,0004	p = 0,0003	p = 0,1011	p = 0,0002	p = 0,0001	p = 0,0001	p = 0,0238	
	ns	*	*	ns	*	*	*	ns	
	p = 0,21941	p = 0,0025	p = 0,0011	p = 0,4154	p = 0,0005	p = 0,0124	p = 0,0006	p = 0,34679	

П р и м е ч а н и е. В каждом столбце для каждого гибрида средние значения с разными буквами достоверно различаются согласно тесту Дункана (*p* < 0,05); ns – различия недостоверны. № 7, № 12, Б1 – см. рис. 1.

Т а б л и ц а 2

**Средние значения длины устьиц и плотности устьиц при различных обработках d-маннитолом (О)
для трех гибридов *Populus* (Г)**

Гибрид	d-маннитол, мМ	Длина устьица, мкм	Плотность устьиц, шт./мм ²
№ 7	0	20,30a	127,75a
	50	23,50a	105,73ab
	100	20,75a	95,45b
	150	19,76a	103,08ab
№ 12	0	18,47b	131,53b
	50	20,55a	194,43a
	100	20,89a	152,30ab
БІ	0	21,34a	155,44a
	50	20,73a	194,57a
О		ns $p = 0,05030$	* $p = 0,01383$
Г		ns $p = 0,05809$	* $p = 0,00006$
О × Г		ns $p = 0,10972$	* $p = 0,00555$

П р и м е ч а н и е. См. табл. 1.

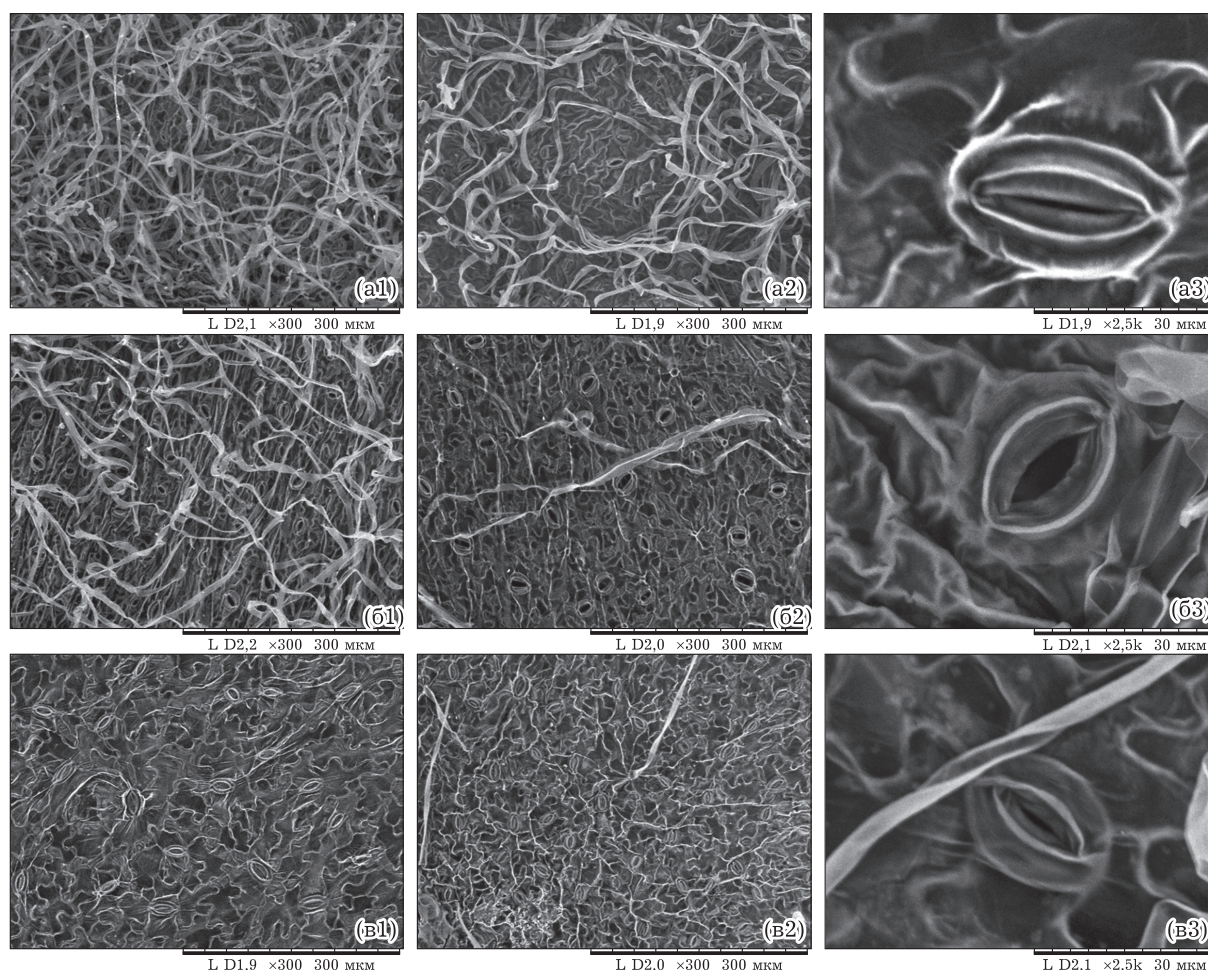


Рис. 3. СЭМ-микрофотографии абаксиальной поверхности листьев (1, 2) и устьиц (3) растений-регенерантов тополей в культуре *in vitro*: (a1 – a3) – *Populus alba* × *P. bolleana* № 7; (б1 – б3) – *P. alba* × *P. bolleana* № 12; (в1 – в3) – *P. davidiana* × *P. bolleana* cv. Байчен-1. 1 – контроль, 2–50 мМ d-маннитола

на количество листьев, ФУ листа и оводненность растений ($p < 0,05$) (см. табл. 1).

Анализ абаксиальной поверхности листа показал, что тополь Байчен-1 характеризуется самым слабым опушением и наибольшей плотностью устьиц (155,44 шт./мм²), тополь № 7 – наиболее густым опушением и наименьшей плотностью устьиц (127,75 шт./мм²) (табл. 2, рис. 3). Длина устьиц достоверно не различалась у изучаемых гибридов и составила в контроле 18,47–21,34 мкм. Нами показано достоверное влияние d-маннитола, генотипа гибрида и сочетания этих факторов на количество устьиц на единицу площади листа ($p < 0,05$). При этом для гибрида № 7 характерно снижение количества устьиц при внесении осмотического агента, для № 12 отмечено достоверное увеличение количества и размера устьиц при внесении 50 мМ d-маннитола, для тополя Байчен-1 достоверных различий не обнаружено.

ОБСУЖДЕНИЕ

Ранее сообщалось о скрининге растений на засухоустойчивость в культуре *in vitro* с использованием различных стресс-индуцирующих агентов (d-маннитол, d-сорбит, полиэтиленгликоль (ПЭГ), хлорид натрия и др.) [Razavizadeh et al., 2019]. В настоящем исследовании проведен скрининг *in vitro* декоративных форм тополя на устойчивость к засухе с использованием d-маннитола. Данный осмотический агент успешно использован для скрининга и повышения засухоустойчивости в условиях *in vitro* у сортов *Saccharum* sp. [Errabii et al., 2007], *Trigonella foenum-graecum* L. [Pant et al., 2014], *Eucalyptus tereticornis* Sm. [Singh et al., 2020], *Robinia pseudoacacia* L. [Szyp-Borowska et al., 2022] и др. Реакции растений на стресс, вызванный засухой, включают увядание листьев, уменьшение площади листьев, стимуляцию роста корней, изменение относительного содержания воды и структуры мембран, образование активных форм кислорода и накопление осмолитов и антиоксидантов, а также транскрипционную активацию генов, реагирующих на засуху [Miller et al., 2010; Quan et al., 2016]. При оценке воздействия стрессовых факторов чаще всего ориентируются на такие параметры, как скорость и энергия прорастания семян, темпы

роста побегов, изменения площади листовой пластики, хлороз листьев и др. Рост побегов является самым чувствительным параметром как для осмотического, так и солевого стресса. Показано, что факторы засоления и засухи в большей степени угнетают рост побегов и листьев, чем корневую систему [Claeys et al., 2014]. В результате наших исследований показано, что самой низкой засухоустойчивостью характеризовался тополь Байчен-1 (DTE = 0,37). Для данного сорта характерно слабое опушение и наибольшее количество устьиц на единицу площади листа. Гибрид № 7 проявил самую высокую устойчивость к воздействию d-маннитола (DTE = 0,68) и характеризовался наиболее опушенными листьями с наименьшей плотностью устьиц. Гибрид № 12 занимает промежуточное положение (DTE = 0,55), и для него отмечено достоверное увеличение количества устьиц и их длины при внесении 50 мМ осмотического агента.

По литературным данным известно, что растения *P. euphratica* Olivier сохраняли жизнеспособность независимо от концентрации d-маннитола в питательной среде, тогда как только 78 % растений *P. alba* cv. *Pyramidalis* × *P. tomentosa* Carrière были жизнеспособны при 300 мМ d-маннитола, но ни одна особь не выживала при 400 мМ [Watanabe et al., 2000]. Другими исследователями также показано, что *P. tomentosa* и *P. euphratica* способны расти даже в условиях сильного осмотического стресса (0,5 М d-маннитола; –1,7 МПа) в условиях *in vitro* [Kang et al., 1996]. При анализе влияния d-маннитола на каллусную культуру тополей отмечено, что каллусы *P. pruinosa* Schrenk характеризовались приростом по сухой биомассе при увеличении концентрации d-маннитола в питательной среде в отличие от всех остальных изучаемых образцов [Erst et al., 2019]. Авторы отмечают, что наименьшими показателями прироста биомассы в ответ на внесение осмотического компонента характеризовались каллусы *P. tremula* Ф. № 8. Было исследовано влияние ПЭГ 6000 на рост и развитие побегов пяти генотипов *P. alba* (L-12, L-80, LBM, LCM и Villafranca), культивируемых *in vitro* [Vuksanović et al., 2019]. Авторами показано, что питательная среда, содержащая ПЭГ 50 г/л, была наиболее подходящей для оценки засухоустойчивости генотипов. Для двух сортов *Medicago sativa* L.

выявлено, что при воздействии стресса, вызванного засухой, значительно уменьшается длина листовой пластинки и в меньшей степени – ширина [Quan et al., 2016]. Для всех исследуемых нами гибридов отмечено снижение сырой и сухой биомассы при добавлении d-маннитола. Нами показано, что параметры листовой пластинки достоверно уменьшались только у гибрида № 7, при этом форма листа (ФУ) не изменялась.

Контроль водного баланса растения, с одной стороны, регулируется его устьичным аппаратом [Hetherington, Woodward, 2003], с другой – на характеристики устьиц могут оказывать влияние факторы окружающей среды [Munir et al., 2011]. Устьичная проводимость регулирует поток транспирации и использование воды и зависит от плотности и движения клеток устьиц [Kim et al., 2010]. Ранее было продемонстрировано, что более низкая плотность устьиц приводит к уменьшению потери воды и обеспечивает более высокую засухоустойчивость [Ouyang et al., 2010]. Сильный стресс от засухи приводил к значительному уменьшению длины и ширины устьиц и увеличению плотности устьиц у сортов *Pistacia vera* L. [Arzani et al., 2013; Esmaeilpour et al., 2016], а также у подверженных засухе *Olea europaea* L. [Bosabalidis, Kofidis, 2002]. Наблюдаемую более высокую плотность устьиц и/или уменьшенные размеры устьиц можно рассматривать как анатомическую адаптацию на уровне листа для уменьшения его транспирации [Muradoğlu, Gündoğdu, 2011]. Для некоторых растений показано, что виды с более крупными устьицами, которые закрываются медленнее, более чувствительны к усиливающейся засухе [Hetherington, Woodward, 2003]. Трихомы также играют ряд важных физиологических ролей, включая устойчивость к биотическим и абиотическим стрессам, в том числе к засухе [Hauser, 2014]. Они могут ограничивать потерю воды при транспирации за счет увеличения сопротивления пограничного слоя листа и воздуха [Mo et al., 2016; Galdon-Armengo et al., 2018]. Наши исследования показали, что при одинаковых размерах устьиц, наиболее засухоустойчивыми были образцы с меньшим количеством устьиц на единицу площади и наличием более густого опушения листа.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Засухоустойчивость декоративных форм тополя изучена в условиях *in vitro* с использованием d-маннитола в качестве агента, вызывающего стресс. Гибрид № 7 выдерживает до 250 мМ d-маннитола, тогда как сорт Байчен-1 – до 50 мМ d-маннитола, присутствующего в питательной среде, после 30-дневного периода культивирования. Гибрид № 12 сохраняет жизнеспособность при концентрации d-маннитола до 150 мМ. Результаты настоящего исследования были подтверждены микроморфологическими параметрами (устьичный аппарат и опушение) в отношении засухоустойчивости. Лабораторный скрининг *in vitro* должен быть подкреплен дальнейшими полевыми испытаниями для оценки долгосрочного воздействия стресса, вызванного засухой, и фенотипической стабильности изучаемых гибридов тополя.

При подготовке публикации использовали материалы биоресурсной научной коллекции ЦСБС СО РАН “Коллекции живых растений в открытом и закрытом грунте”, УНУ № USU440534. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУН Центрального сибирского ботанического сада СО РАН, проекты №№ АААА-А21-121011290027-6 и АААА-А21-121011290025-2.

ЛИТЕРАТУРА

- Бакулин В. Т. Тополь белый в Западной Сибири. Новосибирск: Изд-во “Гео”, 2012. 117 с.
- Фомин Э. С., Фомина Т. И. Изменение фенологии многолетних растений в Западной Сибири на фоне глобального потепления климата // Сиб. экол. журн. 2021. Т. 28, № 5. С. 543–556. doi: 10.15372/SEJ20210504 [Fomin E. S., Fomina T. I. Changes in the Phenology of Perennial Plants in Western Siberia against the Background of Global Warming // Contemp. Probl. Ecol. 2021. Vol. 14, N 5. P. 434–445. <https://doi.org/10.1134/S199542552105005X>]
- Эрст А. А., Банаев Е. В. Сохранение и размножение в культуре *in vitro* декоративных форм тополя селекции ЦСБС СО РАН // Бюл. ГБС. 2021. № 1. С. 61–69. doi: 10.25791/BBGRAN.01.2021.1085
- Anderegg W., Kane J., Anderegg L. Consequences of widespread tree mortality triggered by drought and temperature stress // Nat. Clim. Change. 2013. Vol. 3. P. 30–36. <https://doi.org/10.1038/nclimate1635>
- Arzani K., Ghasemi M., Yadollahi A., Hokmabadi H. Study of foliar epidermal anatomy of four pistachio rootstocks under water stress // Idesia (Arica). 2013. Vol. 31. P. 101–107. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-34292013000100012>
- Bosabalidis A. M., Kofidis G. Comparative effects of drought stress on leaf anatomy of two olive cultivars // Plant

- Sci. 2002. Vol 163. P. 375–379. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(02\)00135-8](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(02)00135-8)
- Claeys H., van Landeghem S., Dubois M., Maleux K., Inzé D. What is stress? Dose-response effects in commonly used *in vitro* stress assays // *Plant Physiology*. 2014. Vol. 165. P. 519–527.
- Errabii T., Gandonou C. B., Essalmani H., Abrini J., Idaomar M., Senhaji N. S. Effects of NaCl and mannitol induced stress on sugarcane (*Saccharum* sp.) callus cultures // *Acta Physiol. Plant*. 2007. Vol. 29. P. 95–102. <https://doi.org/10.1007/s11738-006-0006-1>
- Erst A. A., Bakulin V. T., Erst A. S., Kuznetsov A. A., Bayahmetov E. Zh. *In vitro* propagation of ornamental hybrids of *Populus* L. // *Biosci. Biotechnol. Res. Asia*. 2014. Vol. 11. P. 69–77.
- Erst A. A., Shishkin S. V., Voronkova M. S. Evaluation of salinity and osmotic stress resistance of the genus *Populus* species and hybrids in culture *in vitro* // *Plant Cell Biotechnol. and Mol. Biol*. 2019. Vol. 20, N 11–12. P. 451–458.
- Esmailpour A., van Labeke M.-C., Samson R., Boeckx P., van Damme P. Variation in biochemical characteristics, water status, stomata features, leaf carbon isotope composition and its relationship to water use efficiency in pistachio (*Pistacia vera* L.) cultivars under drought stress condition // *Scientia Horticulturae*. 2016. Vol. 211. P. 158–166. [10.1016/j.scientia.2016.08.026](https://doi.org/10.1016/j.scientia.2016.08.026)
- Galdon-Armero J., Fullana-Pericas M., Mulet P. A., Conesa M. A., Martin C., Galmes J. The ratio of trichomes to stomata is associated with water use efficiency in *Solanum lycopersicum* (tomato) // *Plant J*. 2018. Vol. 96, N 3. P. 607–619. doi: [10.1111/tpj.14055](https://doi.org/10.1111/tpj.14055).
- Hauser M. T. Molecular basis of natural variation and environmental control of trichome patterning // *Front Plant Sci*. 2014. Vol. 5. P. 320. doi: [10.3389/fpls.2014.00320](https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00320).
- Hetherington A., Woodward F. The role of stomata in sensing and driving environmental change // *Nature*. 2003. Vol. 424. P. 901–908. <https://doi.org/10.1038/nature01843>
- Kang J. M., Kojima K., Ide Y., Sasaki S. Growth response to the stress of low osmotic potential, salinity and high pH in cultured shoot of Chinese poplars // *J. For. Res*. 1996. Vol. 1. P. 27–29. <https://doi.org/10.1007/BF02348336>
- Kim T. H., Böhmer M., Hu H., Nishimura N., Schroeder J. I. Guard cell signal transduction network: advances in understanding abscisic acid, CO₂ and Ca²⁺ signaling // *Annu. Rev. Plant Biol*. 2010. Vol. 61. P. 561–591. doi: [10.1146/annurev-arplant-042809-112226](https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042809-112226)
- Miller G., Suzuki N., Ciftci-Yilmaz S., Miller R. Reactive oxygen species homeostasis and signaling during drought and salinity stresses // *Plant Cell Environ*. 2010. Vol. 33. P. 453–467. doi: [10.1111/j.1365-3040.2009.02041.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2009.02041.x)
- Mo Y., Yang R., Liu L., Gu X., Yang X., Wang Y., Zhang X., Li H. Growth, photosynthesis and adaptive responses of wild and domesticated watermelon genotypes to drought stress and subsequent re-watering // *Plant Growth Regul*. 2016. Vol. 79. P. 229–241. <https://doi.org/10.1007/s10725-015-0128-9>
- Munir M., Khan M. A., Ahmed M., Bano A., Ahmed S. N., Tariq K., Tabassum S., Mukhtar T., Ambreen M., Bas-hir S. Foliar epidermal anatomy of some ethnobotanically important species of wild edible fruits of northern Pakistan // *J. Med. Plants Res*. 2011. Vol. 5. P. 5873–5880.
- Muradoğlu F., Gündoğdu M. Stomata size and frequency in some walnut (*Juglans regia*) cultivars // *Int. J. Agric. Biol*. 2011. Vol. 13, N 6. P. 1011–1015.
- Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture // *Physiologia Plantarum*. 1962. Vol. 15, N 2. P. 473–497.
- Ostry M. E. *In vitro* screening and selection for disease resistance / Eds.: N. B. Klopfenstein, Y. W. Chun, M. S. Kim, M. R. Ahuja. Micropropagation, genetic engineering and molecular biology of *Populus*. Gen. Tech. Rep. RM-GRT-297, USDA, Fort Collins CO. 1997. P. 155–160.
- Ouyang S. Q., Liu Y. F., Liu P., Lei G., He S. J., Ma B., Zhang W. K., Zhang J. S., Chen S. Y. Receptor-like kinase OsSIK1 improves drought and salt stress tolerance in rice (*Oryza sativa*) plants // *Plant J*. 2010. Vol. 62. P. 316–329. doi: [10.1111/j.1365-3113.2010.04146.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-3113.2010.04146.x)
- Pant N. C., Agarwal R., Agrawal S. Mannitol-induced drought stress on calli of *Trigonella foenum-graecum* L. Var. RMT-303 // *Indian J. Exp. Biol*. 2014. Vol. 52. P. 1128–1137.
- Polle A., Chen S. L., Eckert C., Harfouche A. Engineering drought resistance in forest trees // *Front. Plant Sci*. 2019. Vol. 9. P. 1875. doi: [10.3389/fpls.2018.01875](https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01875)
- Quan W., Liu X., Wang H., Chan Z. Comparative physiological and transcriptional analyses of two contrasting drought tolerant Alfalfa varieties // *Front. Plant Sci*. 2016. Vol. 6. P. 1256. doi: [10.3389/fpls.2015.01256](https://doi.org/10.3389/fpls.2015.01256)
- Razavizadeh R., Farahzadianpoor F., Adabavazeh F., Komatsu S. Physiological and morphological analyses of *Thymus vulgaris* L. *in vitro* cultures under polyethylene glycol (PEG)-induced osmotic stress // *In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant*. 2019. Vol. 55. P. 342–357. <https://doi.org/10.1007/s11627-019-09979-1>
- Singh D., Kaur S., Kumar A. *In vitro* drought tolerance in selected elite clones of *Eucalyptus tereticornis* Sm. // *Acta Physiol. Plant*. 2020. Vol. 42. P. 17. <https://doi.org/10.1007/s11738-019-3009-4>
- Szyp-Borowska I., Ukalska J., Niemczyk M., Wojda T., Thomas B. R. Effects of water deficit stress on growth parameters of *Robinia pseudoacacia* L. selected clones under *in vitro* conditions // *Forests*. 2022. Vol. 13, N 12. P. 1979. <https://doi.org/10.3390/f13121979>
- Vuksanović V., Kovačević B., Orlović S., Kebert M., Kovač M. The influence of drought on growth and development of white poplar shoots *in vitro* // *Poplar*. 2019. Vol. 203. P. 13–18.
- Watanabe S., Kojima K., Ide Y., Sasaki S. Effects of saline and osmotic stress on proline and sugar accumulation in *Populus euphratica* *in vitro* // *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2000. Vol. 63. P. 199–206. <https://doi.org/10.1023/A:1010619503680>

In vitro drought tolerance in ornamental poplars

A. A. ERST, A. V. KARAKULOV

Central Siberian Botanical Garden, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences
630090, Novosibirsk, Solotodolinskaya str., 101
Email: erst_aa@csbg-nsk.ru, krk@inbox.ru

The resistance of *Populus alba* × *P. bolleana* No.7, *P. alba* × *P. bolleana* No.12 и *P. davidiana* × *P. bolleana* cv. Baichen 1 to osmotic stress *in vitro* has been investigated. Hybrid No. 7 was shown to tolerate up to 250 mM d-mannitol, whereas Baichen 1 variety only up to 50 mM d-mannitol in the nutrient medium after a 30-day culture period. Hybrid No. 12 remained viable at d-mannitol concentrations up to 150 mM. The use of d-mannitol significantly reduced the parameters of the leaf blade (length, width, leaf area) only in hybrid No. 7, for the rest of the samples the differences were insignificant ($p < 0.05$). The introduction of the osmotic component led to a decrease in the fresh and dry weight of all the studied samples by 1.7–2.2 times, while the water content of the tissues remained practically unchanged. The results of this study were confirmed by micromorphological parameters (stomatal apparatus and pubescence) in relation to drought tolerance. Poplar Baichen 1 was characterized by the weakest pubescence and the highest density of stomata (155.44 pieces/mm²), poplar No. 7 – the most dense pubescence and the smallest number of stomata per unit area (127.75 pieces/mm²). No direct relationship was found between the impact of osmotic stress and the number and size of stomata in the studied samples. We have shown that the studied poplar hybrids have different resistance to osmotic stress under *in vitro* conditions. More drought-tolerant hybrid No. 7 can be recommended for landscaping urban areas with increased anthropogenic pressure.

Key words: *Populus*, *in vitro* propagation, d-mannitol, *in vitro* screening, stomata, pubescence.