

**Федеральная целевая программа**  
**«Исследования и разработки по приоритетным**  
**направлениям развития научно-технологического**  
**комплекса России на 2014—2020 годы»**

**Соглашение**  
**14.616.21.0013 от 17.09.2014**

на период 2014 - 2016 гг.

**Тема:** Разработка технологии оценки и прогнозирования экологических эффектов выращивания лесных плантаций на основе биотехнологических форм деревьев с заданными свойствами (увеличенная скорость роста, усиленная ассимиляция азота почвы, пониженное содержание лигнина, повышенное содержание целлюлозы)

**Руководитель проекта:** руководитель группы лесной биотехнологии  
ФИБХ РАН Шестибратов Константин Александрович

Рациональное природопользование

# Участники проекта

**Получатель субсидии:** Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ИБХ РАН)

- В настоящее время ИБХ РАН — это крупнейший центр физико-химической биологии и биотехнологии в России. Он возглавляет проведение работ, связанных с химическим изучением живой материи. В нём проводятся исследования молекулярных механизмов различных процессов жизнедеятельности, их практического использования в интересах медицины и сельского хозяйства, а также разрабатываются фундаментальные и прикладные аспекты биотехнологии

**Международный партнёр:** Университет Гёттингена (г. Гёттинген, Германия)

- Институт лесной генетики и селекции занимается исследованиями в области разработки стратегий сохранения разнообразных и продуктивных лесных экосистем в случаях быстрого изменения условий окружающей среды и оценки антропогенного воздействия на лесные экосистемы. Объем внебюджетного финансирования – 30,0 млн. рублей

**Соисполнитель:** Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения Российской академии наук

- Институт выполняет работы по разработке математических моделей оценки и прогнозирования продуктивности древостоя, круговоротов азота и углерода в искусственных лесных экосистемах

# Цели и задачи проекта

◆ **Цель проекта** заключается в разработке метода использования трансгенных растений осины и березы с заданными свойствами в качестве биологических моделей, используемых для прогнозирования круговоротов азота и углерода в искусственных лесных экосистемах.

◆ **В задачи проекта** входит:

- разработка математических моделей оценки и прогнозирования продуктивности древостоя, круговоротов азота и углерода в искусственных лесных экосистемах;
- закладка модельного эксперимента в условиях открытого полигона с использованием контейнеризированных растений;
- построение стандартных прогнозных моделей экологических эффектов лесных плантаций;
- разработка технологии оценки и прогнозирования экологических эффектов лесных плантаций, созданных на основе деревьев с заданными характеристиками;
- прогнозирование экологических эффектов лесных плантаций, созданных с использованием пород с заданными характеристиками.

◆ **Актуальность проекта** вызвана все возрастающей значимостью лесных плантаций целевого назначения в качестве источника древесины, изменением климата и связанными с этим эффектами для биогеохимических циклов биофильных элементов.

◆ **Новизна проекта** заключается в использовании в качестве биологических моделей трансгенных форм древесных растений с заданными характеристиками.

# Ожидаемые результаты проекта

- ◆ **Математические модели** оценки и прогнозирования продуктивности древостоя, круговоротов азота и углерода в искусственных лесных экосистемах, созданных с использованием деревьев с заданными свойствами
- ◆ **Стандартные региональные прогнозные модели** на основе метода использования трансгенных клонов осины и березы с заданными характеристиками в качестве биологических моделей
- ◆ **Технология** оценки и прогнозирования экологических эффектов лесных плантаций, созданных на основе деревьев с заданными характеристиками
- ◆ **Онлайн-репозиторий** для обеспечения свободного доступа к версиям прогнозных моделей
- ◆ **Программный продукт** для оценки и прогнозирования экологических эффектов лесных плантаций, созданных на основе деревьев с заданными характеристиками
- ◆ **Интернет-портал** для обеспечения доступа к окончательной версии программного продукта по оценке и прогнозированию экологических эффектов лесных плантаций
- ◆ **Учебное пособие** по пользованию разработанной системы моделей по оценке и прогнозированию экологических эффектов лесных плантаций

Полученные результаты превышают мировой уровень работ в области моделирования последствий долговременного выращивания деревьев на лесных плантациях целевого назначения, так как до настоящего времени модели с использованием деревьев с заданными характеристиками не использовались.

# Перспективы практического использования

## Результаты ПНИ могут быть востребованы:

- ◆ лесными хозяйствами, предприятиями деревообрабатывающей промышленности;
- ◆ природоохранными организациями;
- ◆ научно-исследовательскими институтами и высшими учебными заведениями

## Разрабатываемая модель позволит:

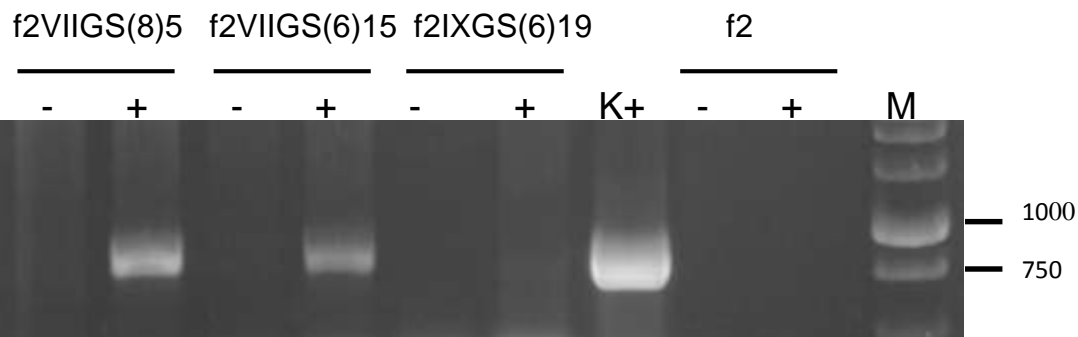
- ✓ на научной основе проводить закладку лесных плантаций, что будет способствовать соответствующему уменьшению вырубок естественных лесонасаждений;
- ✓ достичь значительного экономического эффекта за счет более эффективного лесопользования и учета содержания питательных веществ в почве;
- ✓ повысить точность прогнозирования круговорота азота и углерода в лесных насаждениях;
- ✓ ослабить возможные негативные последствия изменения климата в местах размещения лесных плантаций

# Результаты исследовательской работы, полученные в 2015 г.

1. Проведена работа по адаптации в условиях теплицы (А) и доращиванию в условиях открытого полигона контейнеризированных культур (Б) трансгенных растений осины и березы. Всего было адаптировано около 7 тысяч растений, каждая линия была представлена 200-250 растениями.



2. Проведен анализ экспрессии рекомбинантных генов на уровнях транскрипции (ОТ-ПЦР) и трансляции (Вестерн-блоттинг) в растительных тканях. Ген GS транскрибировался в 9 линиях березы и 9 линиях осины, ген Хег – в 25 линиях осины, ген 4CL – в 4 линиях осины. Во всех этих линиях также наблюдалась трансляция.

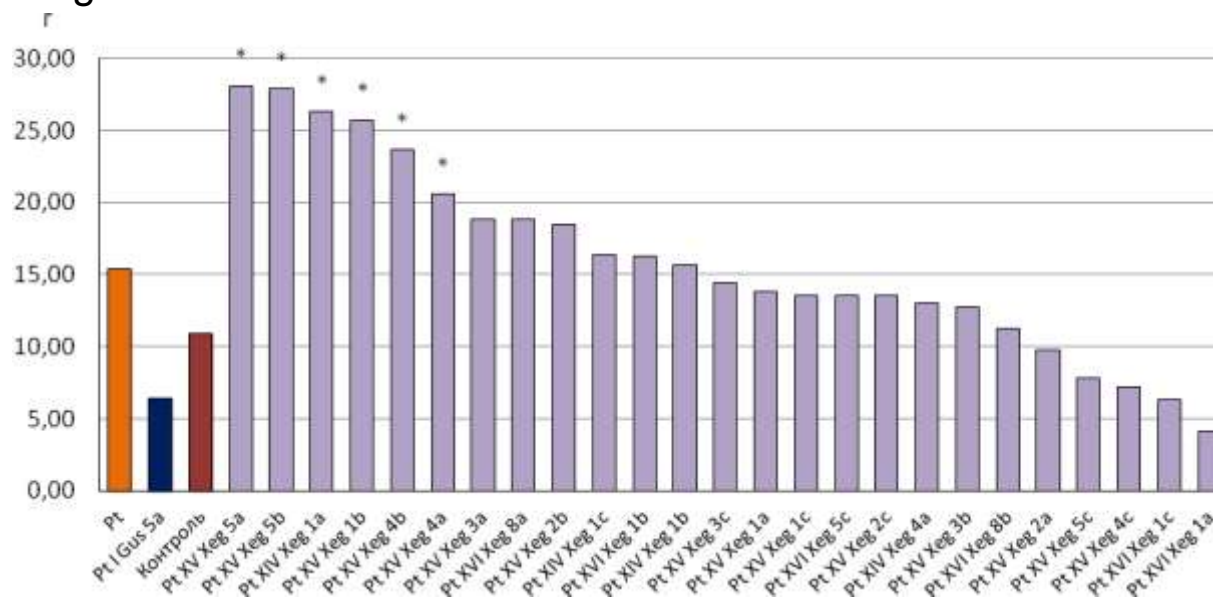


ОТ-ПЦР анализ экспрессии гена GS в трансгенных растениях осины: «+» - препараты РНК после обработки обратной транскриптазой; «-» - без обработки обратной транскриптазой; K+ - плазида рGS; f2 - нетрансгенный контроль; M - молекулярный маркер.

# Результаты исследовательской работы, полученные в 2015 г.

3. Транскриптомный анализ образцов биотехнологических форм осины и берёзы позволил установить уровни экспрессии целевых генов. Показано, что уровень экспрессии рекомбинантных генов варьирует среди различных линий березы и осины.

4. Биометрические исследования в условиях открытого полигона контейнеризированных растений позволили выделить линии трансгенных растений, характеризующихся ускорением роста и повышенной продуктивностью. Показано превышение биомассы по сравнению с контрольными растениями у четырех линий березы с геном GS, четырех линий осины с геном GS и шести линий осины с геном Xeg.



Сравнительный анализ биомассы растений осины с геном Xeg (\* - статистически достоверное отличие от контроля ( $p < 0,05$ )).

# Результаты исследовательской работы, полученные в 2015 г.

5. Произведена закладка долгосрочного модельного эксперимента в условиях открытого полигона с использованием контейнеризированных растений осины и берёзы, трансформированных генами GS, Hcg и 4CL. Общее количество растений осины в эксперимента - 650 штук (26 линий на основе трех генотипов). Общее количество растений березы в эксперимента - 375 штук (15 линий на основе трех генотипов). Часть растений предназначена для использования в долгосрочном эксперименте по разложению растительных образцов.

6. Проведен анализ растительных образцов биотехнологических форм осины и березы с целью определения содержания азота, углерода, лигнинов, целлюлозы и пентозанов. Результаты будут использованы в качестве входных данных при математическом моделировании.



Адаптированные растения березы для модельного эксперимента



Модельный эксперимент с контейнеризированными растениями березы

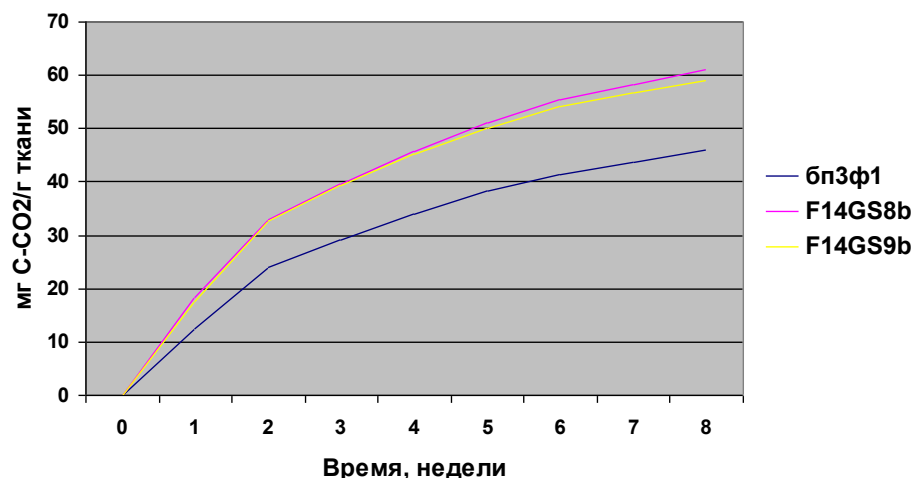


# Результаты исследовательской работы, полученные в 2015 г.

7. Проведена закладка долгосрочных экспериментов по разложению растительных образцов (листьев, стеблей, корней) биотехнологических форм осины и березы, содержащих гены GS, Хег и 4CL. Разложение проводится в инертном субстрате (песке) с добавлением водной вытяжки из лесного растительного опада. Оценка скорости разложения проводится измерением:

а) эмиссии  $\text{CO}_2$  при трех значениях температуры (22, 12, 2°C) и трех значениях влажности (80, 50, 20% ППВ);  
б) потери массы при температуре 22°C и трех значениях влажности (80, 50, 20% ППВ).

8. Проведена закладка полевого эксперимента (опытной лесной культуры) на сертифицированном испытательном полигоне (Гомельская обл., Белоруссия). Для данного эксперимента использовались те же линии, что и в эксперименте по разложению растительных образцов.



Эмиссия  $\text{CO}_2$  при разложении стеблей березы (контроль и трансгенные линии с геном GS) при температуре 22°C и влажности 80% ППВ.

# Результаты исследовательской работы, полученные в 2015 г.

9. Разработаны математические модели оценки и прогнозирования продуктивности древостоя, круговоротов азота и углерода в искусственных лесных экосистемах, созданных с использованием деревьев с заданными характеристиками.

**Модель роста леса EFIMOD-fbp** для описания круговорота органического вещества и азота в посадках быстрорастущих биотехнологических форм берёзы и осины.

## Входные данные:

- число деревьев на гектар, возраст, запас древесины и др.;
- запасы органического вещества и азота;
- температура воздуха, осадки, температура и влажность почвы и лесной подстилки;
- поступление азота из внешних источников.

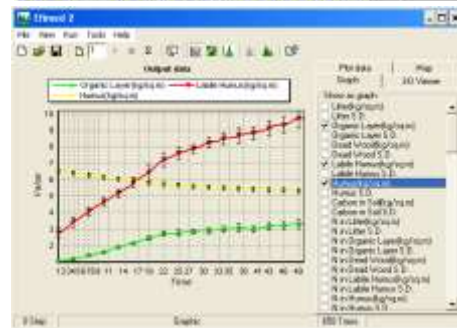
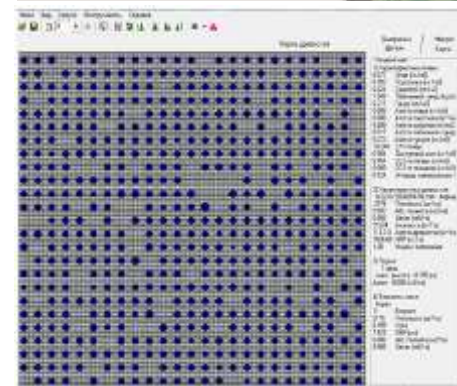
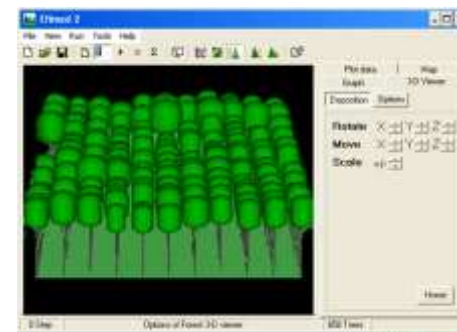
## Выходные параметры:

- число деревьев на гектар, возраст, запас древесины и др.;
- биомасса, количество углерода и азота в каждом дереве;
- количество углерода и азота почвы, включая древесные остатки.

Шаг моделирования для древостоя - 1 год, для почвы - 1 месяц.

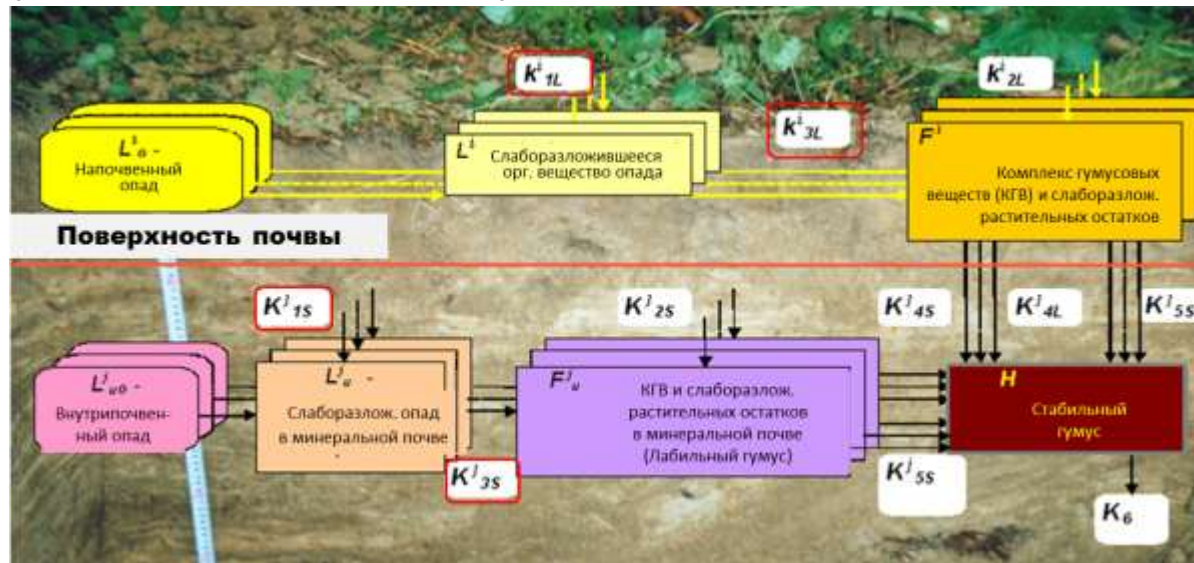
## Моделируемые лесохозяйственные мероприятия:

- Внесение удобрений.
- Рубки ухода



# Результаты исследовательской работы, полученные в 2015 г.

Для решения задач моделирования динамики органического вещества в почвах под плантациями быстрорастущих биотехнологических форм деревьев на основе базовой модели ROMUL разработана специализированная версия - **модель ROMUL-fbp**, учитывающая специфику растительного опада данных форм деревьев



k1-k6 – коэффициенты, характеризующие скорость трансформации растительных остатков и органического вещества (ОВ) почв.

Красным выделены коэффициенты, модифицированные в ROMUL-fbp по сравнению с базовой версией.

Последовательность процессов трансформации ОВ показана стрелками.

Шаг моделирования – 1 месяц.

## Входные данные:

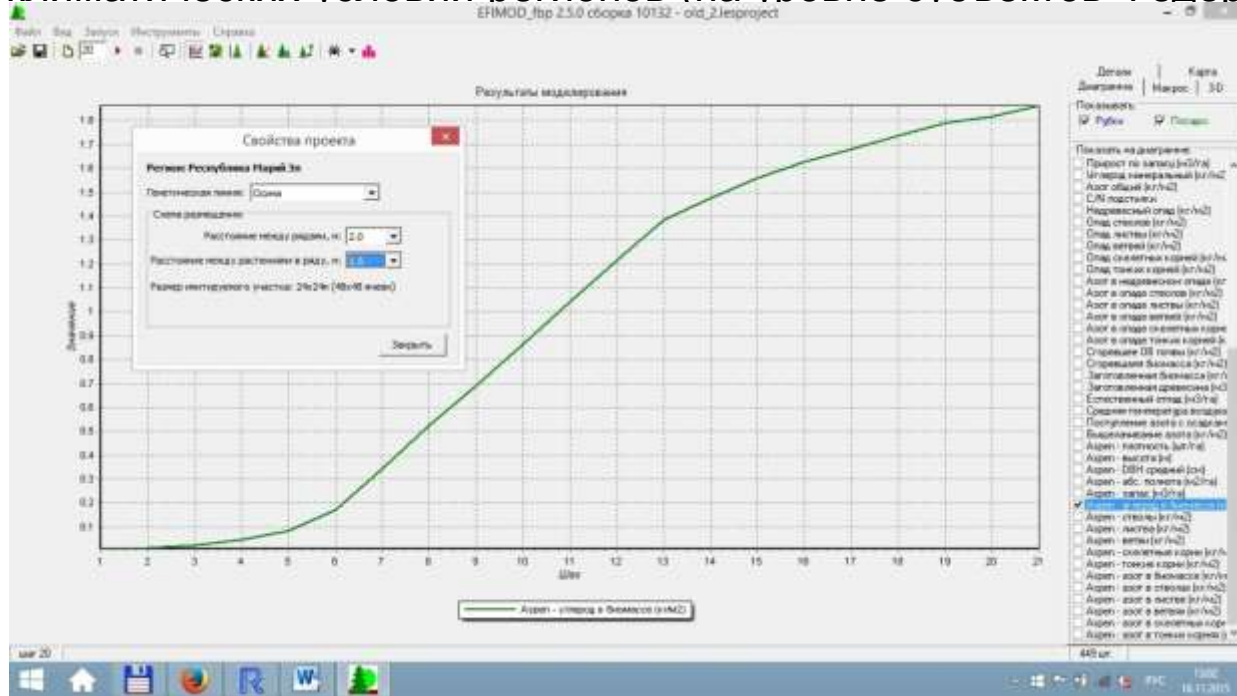
- биомасса и содержание азота в разных когортах опада (листья, ветви, корни);
- запасы органического вещества и азота в органических и минеральных горизонтах;
- температура и влажность почвы и лесной подстилки;
- поступление азота из внешних источников.

**Выходные параметры:** количество углерода и азота в разных фракциях органического вещества лесной подстилки и минеральных горизонтов почвы.

# Результаты исследовательской работы, полученные в 2015 г.

10. Проведено построение стандартных региональных прогнозных моделей на основе метода использования трансгенных клонов осины и березы с заданными характеристиками в качестве биологических моделей при прогнозировании круговоротов азота и углерода в искусственных лесных экосистемах.

Стандартные региональные прогнозные модели учитывают специфику почвенно-климатических условий регионов (на уровне субъектов Федерации).



Пример интерфейса стандартной региональной прогнозной модели для территории Республики Марий-Эл (EFIMOD-fbp-Reg12)

Стандартный набор лесохозяйственных сценариев включает выбор параметров:

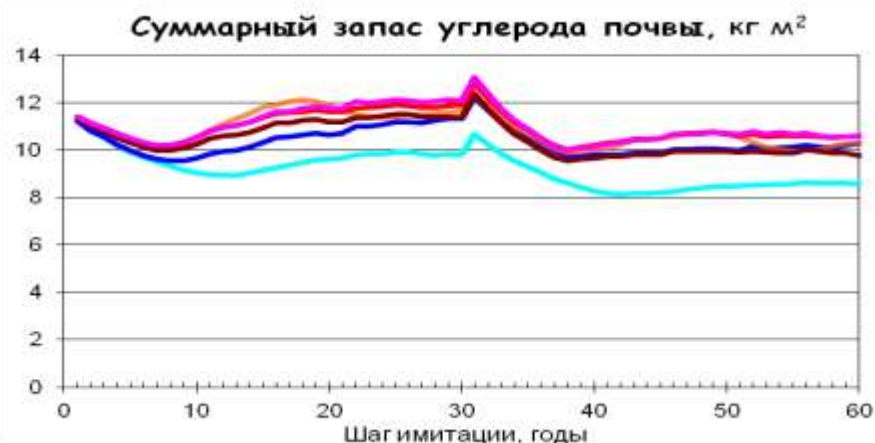
- ❖ Целевая порода (Осина/Береза)
- ❖ Трансгенный клон
- ❖ Периодичность и интенсивность рубок ухода
- ❖ Возраст рубки главного пользования
- ❖ Применяемые дозы азотных минеральных удобрений

# Результаты исследовательской работы, полученные в 2015 г.

Примеры использования стандартных региональных прогнозных моделей EFIMOD-fbr  
Имитация создания лесных плантаций с коротким оборотом рубки (30 лет) на основе березы (нативная форма, линия **GS**) и осины (нативная форма, линии **Xeg, GS, 4CL**).

Оценки выполнены для почвенно-климатических условий Республики Марий-Эл; почва – серая лесная среднесуглинистая.

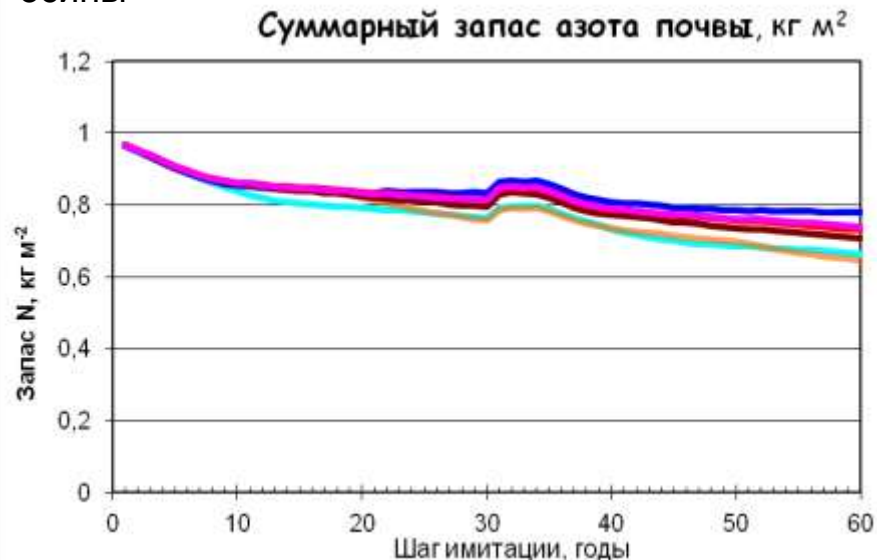
Рубки ухода в 10 и 15 лет; внесение удобрений – дважды по 150 кг N /га в 5 и 20 лет.



Условные обозначения сценариев



Показаны результаты сравнительной оценки динамики почвенных запасов органического вещества и азота при выращивании березы и осины



# Состояние выполнения запланированных на 2015 год индикаторов

№ п/п	Наименование	Ед. измерения	Значения на текущий год	
			Запланировано	Достигнуто
1	Доля исследователей в возрасте до 39 лет в общей численности исследователей-участников проекта	%	50	51,6
2	Объем привлеченных внебюджетных средств	Млн. руб.	9,2	9,20641854
3	Число патентов, полученных по результатам проекта	Ед.	1	Заявка в стадии написания
4	Число публикаций по результатам проекта в научных журналах	Ед.	2	2 статьи опубликованы* ; 1 – отправлена в редакцию <sup>Δ</sup>

\*В.Г. Лебедев, К.А. Шестибратов. Полевые испытания и коммерциализация биотехнологических форм лесных древесных растений// Лесоведение.-2015.-№5.-С.388-400.

**Комаров А.С.** Чертов О.Г., Быховец С.С., Припутина И.В., Шанин В.Н., Видягина Е.О., Лебедев В.Г., Шестибратов К.А. Воздействие осиновых плантаций с коротким оборотом рубки на биологический круговорот углерода и азота в лесах бореальной зоны: модельный эксперимент//Математическая биология и биоинформатика. - 2015.-Т.10.-№2.-С.398-415.

<sup>Δ</sup> V. Lebedev, V.Faskhiev, and K.Shestibratov . Lack of Correlation between Ammonium Accumulation and Survival of Transgenic Birch Plants with Pine Cytosolic Glutamine Synthetase Gene after "Basta" Herbicide Treatment // Journal of Botany.

# Состояние выполнения запланированных на 2015 год показателей

№ п/п	Наименование	Ед. измерения	Значения на текущий год	
			Запланировано	Достигнуто
1	Количество мероприятий по демонстрации и популяризации результатов	Ед.	2	2 (IUFRO Tree Biotechnology Conference 2015, Florence, Italy; VI Всероссийская научная конференция по лесному почвоведению с международным участием, Сыктывкар)
2	Средний возраст исследователей – участников проекта	лет	40	38,8
3	Число использованных объектов зарубежной инфраструктуры	Ед.	1	1 (Испытательный полигон Института леса НАНБ)
4	Количество использованных УНУ	Ед.	1	1 (Станция ФИТОТРОН)
5	Количество использованных ЦКП	Ед.	1	1 (ИФХиБПП РАН)

**Спасибо за внимание!**

**Докладчик:**

С.н.с. Лебедев Вадим Георгиевич