

УДК 631.527.6:581.143.6

КЛОНАЛЬНОЕ МИКРОРАЗМНОЖЕНИЕ В СОХРАНЕНИИ БИОРАЗНООБРАЗИЯ РАСТЕНИЙ

Кутас Е.Н.

Центральный ботанический сад НАН Беларуси,
Республика Беларусь, г. Минск, ул.Сурганова, 2в, cbg@it.org.by

Clonal micropropagation in conservation of biodiversity of plant

Kutas E.N.

Central Botanical Garden of the NAS of Belarus,
Minsk, Republic of Belarus, Surganova, 2v, cbg@it.org.by

In the recent years a great attention is paid to the problem of biodiversity and its protection. Now plant introduction is considered to be one of the available methods of conserving biodiversity of plants, rare and vanishing among them. Clonal micropropagation that is alternation method of conserving biodiversity of plant was suggested.

В последнее время назрела необходимость постановки на принципиально новый уровень задач изучения, сохранения и использования биологического разнообразия как основы устойчивости и стабильности биосферы. Сокращение биологического разнообразия рассматривается как одна из основных глобальных экологических проблем, стоящих перед человечеством на современном этапе.

Разделяя озабоченность многих стран мира по поводу глобальной угрозы биологическому разнообразию и понимая особую ответственность за его сохранение в границах национальной территории, представители Правительства Республики Беларусь совместно с руководителями более 100 стран мира подписали в 1992 году в Рио-де-Жанейро Конвенцию о биологическом разнообразии.

Как известно понятие биологическое разнообразие объединяет все виды растений, животных и микроорганизмов, а также включающие их экосистемы. Оно подразделяется на три самостоятельные, но взаимосвязанные уровни:

- 1) генетическое разнообразие - внутривидовая и внутривидовая гетерогенность;
- 2) видовое разнообразие в целом или же отдельных крупных таксонов;
- 3) разнообразие экосистем, включающих предшествующие уровни и представляющих среду обитания для биологических видов.

Биологическому разнообразию придается статус общего типа природных ресурсов, наподобие атмосферы, океанов и др., которые представляют жизненно важное значение для мирового сообщества.

Разделяя озабоченность многих стран мира по поводу глобальной угрозы биологическому разнообразию и понимая особую ответственность за его сохранение в границах национальной территории, представители Правительства Республики Беларусь совместно с руководителями более 100 стран мира подписали в 1992 году в Рио-де-Жанейро Конвенцию

о биологическом разнообразии. В 1993 году Конвенция была ратифицирована парламентом. В соответствии со ст.6 Конвенции в Республике Беларусь были разработаны Национальная стратегия и План действий по сохранению и устойчивому использованию биологического разнообразия Республики Беларусь, которые в 1997 году были официально одобрены правительством (Постановление Совета Министров Республики Беларусь от 26.06.1997 г., № 798). Эти документы разрабатывались и принимались с целью определения и научного обоснования приоритетных направлений деятельности и мер по сохранению и устойчивому использованию биологического разнообразия на ближайшую и более отдаленную перспективу.

Растительный мир Беларуси включает 11,5 тысяч видов растений (2100 видов высших и 9400 видов низших растений) из числа которых 96 видов занесены в Красную книгу Беларуси [1].

Общеизвестно, что одним из путей сохранения и восстановления редких видов растений является интродукция их в ботанические сады. Практически единственной организацией, проводящей серьезное биоэкологическое изучение в культуре редких и охраняемых видов растений Беларуси, является Центральный ботанический сад Национальной академии наук Беларуси. Интродукционному испытанию здесь подверглось около 100 редких видов местной флоры. Собрано более 9 тысяч видов, форм, сортов древесно-кустарниковых, орнаментальных, технических, кормовых, пряно-ароматических и лекарственных растений. В дендрологических коллекциях представлено более чем 1500 таксонов. Создан дендрарий, в котором содержится около 500 видов и форм восточно-азиатской и свыше 400 видов северо-американской флоры [1].

Одним из альтернативных путей сохранения и восстановления редких видов растений, с нашей точки зрения, является клональное микроразмножение. Это одно из приоритетных направлений биотехнологии, которое создано и успешно развивается в Центральном ботаническом саду НАН Беларуси.

Наряду с традиционными методами вегетативного и генеративного размножения растений существует относительно новый метод клонального микроразмножения. Клональное микроразмножение - сложный многофакторный физиологический процесс, состоящий из двух принципиально разных этапов: *in vitro* и *ex vitro*, базирующийся на единой теоретической основе: с одной стороны, на морфогенезе и регенерации в условиях *in vitro*, с другой, на структурно-функциональной адаптации регенерантов в условиях *ex vitro*.

Основополагающим моментом абсолютно всей методологии культуры клеток и тканей, в том числе и клонального микроразмножения, является регенерация растений, потому что без нее становятся бессмысленными исследования, касающиеся роста и дифференциации, гибридизации и, наконец, теряет свою значимость клонирование генетически однородного материала ценных сортов многочисленных культур в промышленном масштабе.

Регенерировать растение можно несколькими методами: 1) через активацию пазушных меристем, 2) индукцию соматического эмбриогенеза в каллусной культуре, 3) дифференциацию почек в каллусной культуре, 4) соматический эмбриогенез в ткани экспланта, 5) дифференциация почек в ткани экспланта [2].

Регенеранты, полученные через каллусную культуру, (из соматических зародышей или почек) как правило вызывают сомнения в их генетической стабильности. К сожалению в литературе до сих пор не существует четкого разграничения взглядов по вопросу при каком

методе регенерации можно получить генетически стабильный материал, а при каком - вариабельный. Однако, несмотря на всю сложность проблемы, касающейся качества регенерантов, полученных в культуре клеток и тканей, анализ литературного материала позволяет прийти к выводу, что генетически стабильный материал можно получить практически при любом методе регенерации, соблюдая строгий контроль за морфогенезом, протекающим в культуре клеток и тканей, с помощью гистологического, кариологического и цитогенетического анализов регенерируемого материала. Наиболее высокий процент выхода генетически стабильных регенерантов можно обеспечить при использовании методов активации пазушных меристем, прямого соматического эмбриогенеза и образования побегов непосредственно из ткани экспланта, минуя стадию каллусообразования на питательной среде.

В настоящее время неоспоримо преимущество клонального микроразмножения перед традиционными методами вегетативного и генеративного размножения растений. Разнообразны области его применения: сельское и лесное хозяйство, цветоводство, медицинская и пищевая промышленность. В последнее время намечается тенденция к их расширению: сохранение редких и исчезающих видов растений, охрана окружающей среды. Благодаря клональному микроразмножению, появилась возможность создания банка генотипов растений в виде коллекции стерильных культур. Так в ЦБС НАН Беларуси создана коллекция стерильных культур, включающая интродуцированные сорта голубики высокой [*Ericaceae Vaccinium corymbosum* L.], брусники обыкновенной [*Ericaceae Vaccinium vitis-idaea* L.], виды рододендронов [*Rhododendron*], селекционные гибриды, представители сем. *Vacciniaceae* S.F.Gray.

Клональное микроразмножение взято на вооружение не случайно, оно экономически выгодно. Используя его, можно увеличить коэффициент размножения до 10⁶ экземпляров в год с одного маточного растения, что в сотни тысяч раз больше по сравнению с обычными методами размножения. Получать оздоровленный материал, добиваться ускоренного перехода от ювенильной фазы развития растений к репродуктивной, размножать растения, которые вегетативно не размножаются или размножаются с трудом, а также имеют низкую жизнеспособность или семенную продуктивность, что особенно характерно для редких и исчезающих видов растений и интродуцентов.

Особенно большое значение придают клональному микроразмножению в странах Западной Европы (Чехия, Польша, Франция, Италия) Северной и Южной Америки (Канада, США, Бразилия), Японии, Юго-Восточной Азии (Индия, Индонезия). Лесная растительность Индонезии представлена влажными тропическими лесами. По величине лесопокрытой площади (1 220 000 км²) Индонезия занимает второе место в мире (среди стран тропического пояса) после Бразилии. Интенсивные рубки последних лет привели к значительному сокращению лесопокрытой площади. Для компенсации потерь леса, правительство Индонезии приняло широкую программу лесовосстановления. Потребность в посадочном материале составляет 780 млн. экземпляров в год, в то время как реальная возможность не превышает 4 млн. экземпляров в год. Значительно повысить выход сеянцев в ближайшие годы не позволяло множество объективных факторов: нерегулярность цветения пород, плохое качество семян и др. Для выполнения правительственной программы в лаборатории лесных культур начаты опыты по клональному микроразмножению материала в условиях *in vitro*. Выбраны такие древесные породы как: *Tectona grandis* L. f., *Dalbergia latifolia* Roxb., *Acacia magnum* Wild., *Eucalyptus urophylla* S.T.Blake. и др. [3].

В литературе имеются публикации, свидетельствующие об успешном применении метода клонального микроразмножения для сохранения редких и исчезающих видов растений. Так кактусовидный молочай *Euphorbia handiensis* Burchd – узкий канарский эндемик, находящийся под угрозой исчезновения, был размножен в культуре *in vitro*. Аналогичным образом был сохранен канарский исчезающий вид *Senecio hermosae* Pitard. В качестве эксплантов использовали апексы побегов, изолированных из растений, растущих в естественных условиях обитания. Полученные таким образом растения-регенеранты составили впоследствии устойчивую популяцию в ботаническом саду [4,5].

Методом тканевой культуры удалось размножить и сохранить редкие виды росянок (*Drosera rotundifolia* L. [Droseraceae], *D. Capillaris* Poir., *D. Burkeana* Planch., *D. Hilaris* Cham. et Schlecht.), канарские эндемики, некоторые виды луков (пскемский, алтайский, сине-голубой), редкие виды орхидных умеренной зоны и многие другие.

В результате комплексного исследования, проведенного по индуцируемому морфогенезу и регенерации, а также структурно-функциональной адаптации регенерантов при переносе их из культуральных сосудов в условия оранжереи и открытого грунта нами разработаны технологии клонального микроразмножения для плодово-ягодных растений (14 интродуцированных сортов голубики высокой и 5 сортов брусники обыкновенной) и декоративных растений (13 видов рододендронов и 5 сортов сирени обыкновенной [Oleaceae *Syringa vulgaris* L.] [Oleaceae *Syringa* x *hybrida hort cv.*]) [2].

Разработанные технологии позволяют поставить на промышленную основу производство здорового, экологически чистого посадочного материала таких ценных растений, какими являются интродуцированные сорта голубики высокой, брусники обыкновенной, сирени, интродуцированные виды рододендронов, обладающие пищевой, и лекарственной ценностью, а также радиопротекторным действием (брусника, голубика) и удовлетворить потребности народного хозяйства Беларуси и других регионов СНГ, пострадавших от аварии на ЧАЭС, в этой продукции. Рододендронам, кроме декоративных качеств, присущи лекарственные, дубильные, эфирно-масличные, почвозащитные и водорегулирующие свойства. Эти растения с древних времен широко применялись в народной медицине и используются при лечении различных заболеваний в наши дни. Газоустойчивость рододендронов позволяет озеленять ими крупные города и промышленные центры.

Разработаны три метода регенерации интродуцированных сортов голубики высокой, брусники обыкновенной, сирени, интродуцированных видов рододендронов: 1) через активацию пазушных меристем, 2) пролиферацию каллуса и дальнейшую регенерацию из него растений, 3) непосредственно из ткани листа, минуя стадию образования каллуса. Регенерация интродуцированных сортов голубики высокой, сирени, брусники обыкновенной, интродуцированных видов рододендронов непосредственно из ткани листа может быть использована в системе генетической трансформации с целью получения трансгенных растений с новыми свойствами; регенерация через пролиферацию каллуса – в селекционной работе; регенерация через активацию пазушных меристем – для клонального микроразмножения растений, сохранения редких и исчезающих видов, поддержания биоразнообразия растений, его генофонда.

Результаты экспериментальных исследований, полученные по индуцируемому морфогенезу и регенерации растений позволили создать банк генотипов, представленный коллекцией стерильных культур, включающей свыше 30 видов и сортов представителей сем. *Vacciniaceae* S.F.Gray и *Ericaceae* Juss., служащий одним из путей сохранения биоразнообразия растений.

Стало быть, клональное микроразмножение можно использовать в качестве одного из путей поддержания, сохранения и приумножения природного биоразнообразия растений.

Список литературы

- 1 Первый национальный доклад по выполнению конвенции о биологическом разнообразии в Беларуси. Мн.: БелЭКС, 1998. - 125 с.
- 2 Кутас Е.Н., Сидорович Е.А., Решетников В.Н. Клональное микроразмножение интродуцированных растений //Биологическое разнообразие растений. Его исследование, сохранение и использование в Республике Беларусь. Мн.: УП “Технопринт,” 2003. С. 243-270.
- 3 Umboh I., Setiawan I. et al. L’application de techniques de culture in vitro a la multiplication d’espèces forestières tropicales en Indonésie // Bull. Soc. Bot. Fr. Actual. Bot. 1989. Vol. 136, № 3-4. P. 179-184.
- 4 Ortega G., Gonzales A. Contribucion a la conservacion “ex situ” de especies canarias in peligro: propagacion “in vitro” de Senecio hermosae Pitard //Bot. Macaronesica. 1985. № 14. P. 59-72.
- 5 Gonzales A., Gonzales O., Rubio H. Propagacion “in vitro” de endemismos canarios en peligro de extincion: Euphorbia handiensis Burchd //Bot. Macaronesica. 1988. № 16. P. 25-28.