

УДК 582:581(082)  
ББК 28.59я43  
И73

**Редакционная коллегия:**

д.б.н., чл.-корр. НАН Беларуси *В. В. Титок* (ответственный редактор),  
к.б.н. *П. Н. Белый*; к.б.н. *И. М. Гаранович*; д.б.н. *Н. В. Гетко*;  
к.б.н. *Л. А. Головченко*; *С. М. Кузьменкова*; д.б.н. *Е. Н. Кутас*;  
к.б.н. *Н. М. Лунина*; к.б.н. *О. В. Чижик*; к.б.н. *А. П. Яковлев*

**Рецензенты:**

доктор биологических наук, Ботанический институт  
имени В. Л. Комарова Российской академии наук *К. Г. Ткаченко*;  
кандидат биологических наук, Институт экспериментальной  
ботаники имени В. Ф. Купревича Национальной академии наук Беларуси  
*А. В. Пугачевский*

**Интродукция, сохранение и использование биологического разнообразия флоры** : материалы международной научной конференции, посвященной 90-летию Центрального ботанического сада Национальной академии наук Беларуси (Минск, 28 июня – 1 июля 2022 г.). В 2 ч. Ч. 2 / Нац. акад. наук Беларуси [и др.]. редкол.: В.В. Титок [и др.] – Минск : Белтаможсервис, 2022. – 420 с.

ISBN 978-985-7004-75-1

В сборнике представлены материалы международной научной конференции, посвященной 90-летию Центрального ботанического сада Национальной академии наук Беларуси. Часть 2: секция 3 «Биотехнологические и молекулярно-генетические аспекты изучения и использования биоразнообразия растений», секция 4 «Решение вопросов защиты растений в ботанических садах», секция 5 «Научное, прикладное и просветительское значение ботанических коллекций» и секция 6 «Современные направления ландшафтного дизайна и зеленого строительства».

УДК 582:581(082)  
ББК 28.59я43

ISBN 978-985-7004-75-1 (ч. 2)  
ISBN 978-985-7004-72-0

© ГНУ «Центральный ботанический сад  
Национальной академии наук Беларуси», 2022  
© Оформление. РУП «Белтаможсервис», 2022

## ПОДБОР ПЕРСПЕКТИВНЫХ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДЛЯ СОХРАНЕНИЯ СТАРОВОЗРАСТНЫХ ДРЕВЕСНО-КУСТАРНИКОВЫХ НАСАЖДЕНИЙ СЕВЕРО-ЗАПАДНОГО РЕГИОНА БЕЛАРУСИ

**Седун Е. А., Хотляник Н. В., Зубарев А. В., Спиридович Е. В.**

Центральный ботанический сад Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь,  
khotlyanik@yandex.ru

**Резюме:** Обсуждается перспективность биотехнологических методов для сохранения *in vitro* и последующего размножения некоторых представителей старовозрастных насаждений Минского и Витебского регионов, отработаны этапы микроклонального размножения; приведены первые результаты по введению в культуру *in vitro*, клональному микроразмножению, адаптации отобранных образцов старовозрастных древесно-кустарниковых растений из Минской и Витебской областей РБ.

**Ключевые слова:** старовозрастные насаждения, биотехнология, культуры *in vitro*, клональное микроразмножение.

## SELECTION OF PROMISING BIOTECHNOLOGICAL METHODS FOR THE PRESERVATION OF OLD-GROWN TREE AND SHRUBS PLANTS IN THE NORTH-WEST REGION OF BELARUS

**Sedun E. A., Khotlyanik N. V., Zubarev A. V., Spiridovich E. V.**

**Summary:** Prospects of biotechnological methods for *in vitro* preservation and subsequent reproduction of some representatives of old-growth plantations of Minsk and Vitebsk regions are discussed, stages of clonal micropropagation are worked out; the first results on introduction into culture *in vitro*, clonal micropropagation, adaptation of selected samples of old-growth woody and shrub plants from the Minsk and Vitebsk regions of the Republic of Belarus are given.

**Keywords:** old-growth plantations, biotechnology, cultures *in vitro*, clonal micropropagation.

**Введение.** Человек издавна окружает себя растениями, стремится быть ближе к природе. Аллеи и парки, создаваемые людьми в честь знаменательных дат и событий, имеют историческое значение. Зеленые насаждения являются летописцами истории.

На сегодняшний день представляется достаточно актуальным выявить, сохранить *ex situ* и документировать виды и культивары, сохранившиеся в старинных парках как наиболее устойчивые и адаптированные в местных условиях, как объекты культурного наследия; в образовательных целях, например, как элементы экспозиций различной тематической направленности, они также могут иметь значение в общем биологическом, экологическом и профессионально-растениеводческом образовании населения, что является одной из важных задач ботанических садов, парков.

В ходе проекта нами была собрана информация, которая позволит систематизировать и обобщать сведения о динамических изменениях жизненного состояния старовозрастных древесных и кустарниковых растений. Эта информация крайне необходима для принятия своевременных хозяйственных мер, направленных на сохранение жизнеспособности растений, на выполнение зелеными насаждениями целевого назначения [1].

В каждом случае при выборе стратегии сохранения *in vitro* конкретного таксона необходимо анализировать его биологические особенности, оценивать возможности используемых подходов и их затратность. Привлечение широкого спектра методов сохранения *ex situ* в ботанических садах, когда редкие и исчезающие таксоны сохраняются в дублирующих коллекциях (банке семян, живых коллекциях, банке культур *in vitro*), будет способствовать надежному сохранению генетических ресурсов [2].

**Материалы и методы исследований.** Объекты исследования – древесно-кустарниковые виды и культивары, (многие из которых являются интродуцентами), сохранившиеся в старинных парках Минской и Витебской области, наиболее устойчивые и адаптированные к местным условиям,

перспективные для введения в культуру *in vitro*, характеризуются низкой эффективностью вегетативного и семенного размножения: ива белая *Salix alba* L., ива ломкая *Salix fragilis* L., смородина альпийская *Ribes alpinum* L., чубушник *Philadelphus* L., липа мелколистная *Tilia cordata* Mill., сирень обыкновенная *Syringa vulgaris* L. (сорта и уникальные сортообразцы – 16 шт.), сирень видовая – 6 видов, тополь черный *Populus nigra* L., катальпа прекрасная *Catalpa speciosa*. Всего – 28 образцов.

**Результаты и обсуждение.** В 2019–2020 гг. были обследованы 32 старинных парка на территории Минской и Витебской областей. Взяты образцы для пополнения маточника размножения традиционными методами, для введения в культуру *in vitro* и для получения препаратов ДНК и сохранения их в ДНК банке. За период 2021–2022 гг. года организовано три экспедиционных обследования сохранившихся генотипов интродуцированных древесно-кустарниковых пород в северо-западном регионе, обследовано 10 объектов, собраны образцы старовозрастных растений для введения в культуру *in vitro*.

В ходе экспедиций проведено ГИС документирование мест произрастания старовозрастных видов и форм древесно-кустарниковых растений на территории Минского и Витебского районов Республики. А также собран гербарий для некоторых представителей природной флоры и уникальных интродуцентов усадебно-парковых комплексов. Создана фототека изображений. Файлы фотографий имеют информацию о координатах места съемки, и таким образом могут в дальнейшем служить для мониторинга состояния и распространения этих видов на территории Республики Беларусь.

Целью проводимого исследования являлся подбор перспективных биотехнологических методов для сохранения и последующего размножения *in vitro* некоторых представителей старовозрастных насаждений Минского и Витебского регионов; отработка этапов клонального микроразмножения; оптимизация режима стерилизации материала вводимого *in vitro* культуру, и выявление видов, обладающих морфогенетическим потенциалом для клонального микроразмножения.

Особенно актуален вопрос стерилизации для старовозрастных экземпляров древесно-кустарниковых растений в связи с высокой контаминацией материнских растений, а также эксплантов, полученных из них.

В связи с этим, в воду для выгонки добавляли 0,1 % раствор фунгицида «Максим дачник» (ООО «Фирма «Зеленая аптека садовода») из расчёта 1,5 мл на 1 л воды. На данном этапе фунгицид оказывает пролонгированное действие за счёт того, что с током веществ проходит по ксилеме, что упрощает стерилизацию на этапе введения в культуру *in vitro*. Перед началом стерилизации у эксплантов удаляли листовые пластины. Далее проводили непосредственно стерилизацию:

1. Обработка 2 %-ным раствором хозяйственного 72 %-ного мыла в течение 10 минут с последующей двукратной отмывкой по 5 минут в дистиллированной воде
2. В условиях ламинар-бокса семена помещали на 7 минут в 0,01 % раствор фунгицида «Прозаро» с последующей двукратной отмывкой по 5 минут в стерильной дистиллированной воде.
3. В условиях ламинар-бокса экспланты помещали в 0,1 % раствор AgNO<sub>3</sub> на 5–7 минут с последующей двукратной отмывкой в стерильной дистиллированной воде по 5 минут и переносили на питательную среду.

**Таблица 1. Степень контаминации и инициации латеральных почек у эксплантов при введении в культуру *in vitro* на примере видовой сирени**

Срок культивирования	Контаминация, %	Инициация почек, %
7 дней	10,0	20,0
14 дней	15,0	45,0

Далее растительный материал помещали на модифицированные питательные среды Мурашига и Скуга (MS) [3]. Первичной средой для введения в культуру являлась среда с половинной концентрацией солей MS и добавлением 0,5 мг/л 6-БАП и 20 г/л сахарозы.

После 7 дней культивирования инициация латеральных почек наблюдалась у 20 % эксплантов, а на 14-й – уже у 45,0 %. Остальные экспланты утратили свою жизнеспособность в результате некроза тканей, внутренней или внешней контаминации.

В результате проведенных экспериментов установлено, что на среде с половинной концентрацией солей MS с добавлением 0,5 мг/л 6-БАП, а также сахарозой в концентрации 20 г/л при первичном культивировании, уже на второй неделе введения в культуру *in vitro* наблюдалась пролиферация пазушных почек. Данный процесс наблюдался у следующих культур: роза парковая *Rosea* sp. (рисунок 1), сирень обыкновенная *Syringa vulgaris* L. (рисунок 2).



Рис. 1. Роза парковая *Rosea* sp.

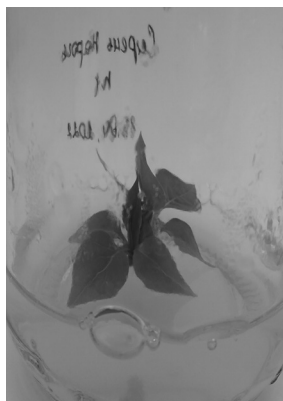


Рис. 2. Сирень обыкновенная *Syringa vulgaris* L.



Рис. 3. Чубушник *Philadelphus* L.

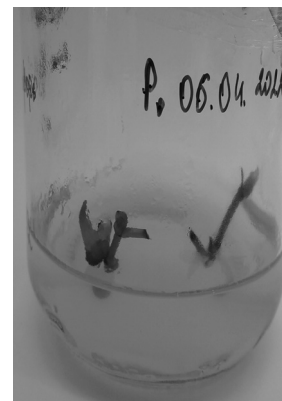


Рис. 4. Липа крупнолистная *Tilia platyphyllos* Scop.

После первичного культивирования микрорастений для успешного развития и активной пролиферации побегов необходим подбор питательных сред иного минерального и гормонального состава, поскольку на этом этапе у растений активизируются другие морфофизиологические механизмы. Для таких культур, как чубушник *Philadelphus* L. (рисунок 3), липа мелколистная *Tilia cordata* Mill., липа крупнолистная *Tilia platyphyllos* Scop., оптимальной средой на данном этапе стала среда MS с добавлением 0,5 мг/л 6-БАП и концентрацией сахарозы 15 г/л (рисунок 4).

В результате исследований установлено, что для сирени, розы парковой, липы мелколистной и липы крупнолистной наиболее оптимальной для стимуляции морфогенеза является среда MS с добавлением 0,5 мг/л 6-БАП и концентрацией сахарозы 15 г/л.

Для таких культур, как ива ломкая *Salix fragilis* L., смородина альпийская *Ribes alpinum* L., катальпа прекрасная *Catalpa speciosa* оптимальной средой для успешного морфогенеза является безгормональная среда WPM с добавлением 15 г/л сахарозы.

Для чубушника, ивы ломкой, катальпы для размножения и сохранения в коллекции использовалась безгормональная среда WPM с добавлением 15 г/л сахарозы.

**Выводы.** В результате проведенных экспериментов был оптимизирован режим стерилизации растительного материала, вводимого в культуру *in vitro*; отработаны этапы клонального микроразмножения; подобраны оптимальные составы сред, а также выявлены виды, обладающие морфогенетическим потенциалом.

### Список литературы

1. Дружинин Ф. Н., Макаров Ю. И., Корякина Д. М. Паспортизация как средство мониторинга ценных древесных и кустарниковых растений // Лесн. журн. 2018. № 5. С. 94–104. (Изв. высш. учеб. заведений). DOI:10.17238/issn0536–1036.2018.5.94.
2. Gavrilescu M. Environmental biotechnology: achievements, opportunities and challenges // Dynamic Biochem. Process Biotech. Mol. Biol. 2010. V. 4. P. 1–36.
3. Murashige, T. Skoog, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture // Physiol. Plant. 1962. V. 15. 473–497 p.