

Генетические ресурсы растений в Беларуси: мобилизация, сохранение, изучение и использование / РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию»; редкол.: Ф. И. Привалов (гл. ред.) [и др.]. — Минск : Четыре четверти, 2019. — 452 с. : ил. — ISBN 978-985-581-352-2.

В коллективной монографии отражены состояние и результаты исследований генетических ресурсов растений в Республике Беларусь, включающие законодательную базу их сохранения и использования, изучение коллекций сельскохозяйственных культур, ботанических садов, растений природной флоры.

Книга адресована научным работникам, специалистам сельского хозяйства, преподавателям, аспирантам, магистрантам, студентам аграрных университетов и биологических факультетов вузов.

The multi-authored monograph reflects the state and results of the research on plant genetic resources in the Republic of Belarus, including legal framework for their conservation and use, study of the collections of agricultural crops, botanical gardens and plants of natural flora.

Печатается по решению
Ученого совета РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию»
(*протокол № 22 от 3 октября 2019 г.*)

Редакционная коллегия:

доктор сельскохозяйственных наук, профессор, член-корреспондент
НАН Беларуси *Ф.И. Привалов (главный редактор)*; доктор сельскохозяйственных наук, профессор,
академик НАН Беларуси *С.И. Гриб (заместитель главного редактора)*;
кандидат сельскохозяйственных наук *И.С. Матыс*; доктор сельскохозяйственных наук,
профессор *З.А. Козловская*; доктор биологических наук, профессор,
академик НАН Беларуси *А.В. Кильчевский*; кандидат биологических наук *В.А. Лемеш*;
доктор биологических наук, профессор, академик НАН Беларуси *В.Н. Решетников*;
доктор биологических наук *С.А. Дмитриева*; доктор биологических наук,
член-корреспондент НАН Беларуси *В.Е. Падутов*; сотрудник отдела международных связей
патентно-лицензионной и информационной работы *А.С. Лавникевич*

Рецензенты:

доктор сельскохозяйственных наук, профессор, член-корреспондент НАН Беларуси *Э.П. Урбан*,
доктор биологических наук, профессор *И.А. Гордей*

6.1.6. Коллекция асептических культур и банк ДНК редких и хозяйственно ценных растений

Работы биотехнологического профиля были развернуты в 1977 г. в лаборатории биохимии и молекулярной биологии Института экспериментальной ботаники АН БССР (ныне отдел ЦБС). Тогда группа исследователей (акад. А.С. Вечер, В.Н. Решетников, Г.М. Долбик, Т.И. Фоменко, Л.Г. Бердичевец, Л.Н. Быкова и др.), используя в качестве объектов исследования каллусы и протопласты картофеля, создали рабочую коллекцию протоклонов сортов этой культуры. Затем работы были распространены на бобовые культуры: горох, пелюшку, люпин, стевию. Работы по созданию коллекций *in vitro* в ЦБС начаты в 1990 г. с участием д.б.н. Е.Н. Кутас, Е.А. Попович, В.Л. Филипени, ими были получены стерильные культуры голубики высокорослой *Bluecrop* и *Dixi* (1990), *Blueray* (1992), *Concord* и *Weymouth* (1994), а также брусники обыкновенной (*Vaccinium vitis-idaea* L.). В 1994 г. выделена отдельная коллекция «Асептические культуры декоративных и плодово-ягодных растений» (куратор Е.А. Попович). Основу коллекции составляли асептические культуры клюквы крупноплодной, миниатюрных роз, сирени обыкновенной, гиацинта восточного, рододендронов и голубики высокорослой.

С 1998 г. работы по созданию и использованию коллекции асептических культур существенно расширились и усилились в связи с переходом из Института экспериментальной ботаники в ЦБС отдела биохимии и биотехнологии растений (заведующий академик НАН Беларуси В.Н. Решетников). В период 1998–2005 гг. в отделе создана, зарегистрирована в соответствии

с действующим законодательством Республики Беларусь, а также постоянно расширяется коллекция асептических культур хозяйственно полезных растений ЦБС (свидетельство Министерства природных ресурсов и охраны окружающей среды № 29 от 2 августа 2005 г.). В настоящее время в состав коллекции асептических культур хозяйственно ценных растений включены представители 26 семейств цветковых растений, принадлежащих 66 родам. Видовой состав коллекции представлен 90 видами природной флоры и 160 культурными сортами и гибридами. Всего в составе коллекции 250 образцов асептических культур (рис. 6.23) [47, 48].

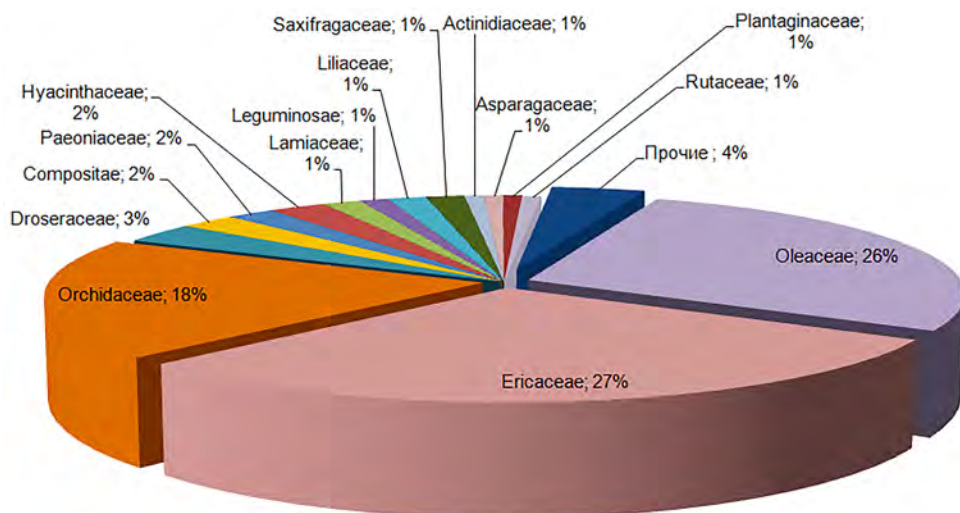


Рисунок 6.23. – Таксономический состав коллекции (по семействам, в %) асептических культур хозяйственно ценных растений ЦБС (по состоянию на конец 2018 г.)

В 2015 г. создана коллекция *in vitro* редких и эндемичных видов дикорастущей флоры стран СНГ на основе природных источников и существующих коллекций *in vitro* стран ЕвразЭС с целью сохранения биоразнообразия растительных ресурсов, реинтродукции и разработки подходов к промышленному использованию ее образцов для получения биотехнологического растительного сырья [48]. В основе создания коллекции лежит принцип максимального охвата генетического разнообразия (ГР) ресурсов каждого изучаемого таксона, включая дикорастущие виды, в том числе редкие и исчезающие, редкие таксоны интродуцированных растений. Сохранение генофонда в культуре *in vitro* позволяет поддерживать коллекции растений, не допуская серьезных изменений их генетической структуры. Всего в состав коллекции асептических культур редких и эндемичных видов на сегодняшний момент входит 38 образцов, их них 13 занесены в «Красную Книгу Республики Беларусь» и 9 – из списка профилактической охраны Республики Беларусь (табл. 6.11, рис. 6.24).

Таблица 6.11. – Видовой состав коллекции *in vitro* редких и эндемичных видов дикорастущей флоры стран СНГ

Семейство	Вид, количество образцов	Вид, русское название	Охранный статус	Хранение образца
<i>Actinidiaceae</i>	<i>Actinidia arguta</i> (Siebold & Zucc.) Planch. ex Miq.	Актинидия острая	?	Культура побегов, среда MS
<i>Actinidiaceae</i>	<i>Actinidia kolomikta</i> (Rupr. & Maxim.) Maxim.	Актинидия коломикта	?	Культура побегов, среда MS
<i>Asteraceae</i>	<i>Artemisia hololeuca</i> Bieb. ex Bess.	Полынь беловойлочная	2 категория КК РФ	Культура побегов, среда MS
<i>Caryophyllaceae</i>	<i>Silene chalcidonica</i> (L.) E.H.L. Krause	Зорька халцедонская	Региональные КК РФ	Культура побегов, среда MS
<i>Compositae</i>	<i>Chrysanthemum zawadskii</i> Herbach	Хризантема Завадского	Региональные КК РФ	Культура побегов, среда MS
<i>Dioscoreaceae</i>	<i>Dioscorea caucasica</i> Lipsky	Диоскорея кавказская	1 категория КК РФ	Культура побегов, среда MS
<i>Droseraceae</i>	<i>Drosera rotundifolia</i> L.	Росьянка круглолистная	Региональные КК РФ	Культура побегов, среда MS
<i>Droseraceae</i>	<i>Drosera anglica</i> Huds.	Росьянка английская	Список профилактической охраны	Культура побегов, среда 1/3 MS
<i>Ericaceae</i>	<i>Rhododendron dauricum</i> L.	Рододендрон даурский	Региональные КК РФ	Культура побегов, среда WPM
<i>Gentianaceae</i>	<i>Gentiana cruciata</i> L.	Горечавка крестовидная	III категория КК РФ	Культура побегов, среда MS
<i>Hypericaceae</i>	<i>Hypericum patulum</i> Thunb.	Зверобой повислый	?	Культура побегов, среда MS
<i>Iridaceae</i>	<i>Iris sibirica</i> L.	Ирис сибирский	IV категория КК РФ	Культура побегов, среда MS
<i>Lamiaceae</i>	<i>Melittis sarmatica</i> Klokov	Кадило сарматское	III категория КК РФ	Культура побегов, среда MS
<i>Lamiaceae</i>	<i>Vitex agnus-castus</i> L.	Витекс священный	Региональные КК РФ	Культура побегов, среда MS
<i>Leguminosae</i>	<i>Hedysarum razoumovianum</i> DC.	Копеечник Разумовского	3 категория КК РФ	Культура побегов, среда B5
<i>Leguminosae</i>	<i>Hedysarum grandiflorum</i> Pall.	Копеечник крупноцветковый	Красная книга РФ	Культура побегов, среда B5
<i>Liliaceae</i>	<i>Lilium caucasicum</i> (Miscz. ex Grossh.) Grossh.	Лилия кавказская	2 категория КК РФ	Культура побегов, среда MS
<i>Liliaceae</i>	<i>Lilium distichum</i> Nakai	Лилия двурядная	Региональные КК РФ	Культура побегов, среда MS
<i>Liliaceae</i>	<i>Lilium cernuum</i> Kom.	Лилия понижающая	3 категория КК РФ	Культура побегов, среда MS

Семейство	Вид, количество образцов	Вид, русское название	Охранный статус	Хранение образца
<i>Liliaceae</i>	<i>Lilium pumilum</i> Delile	Лилия карликовая	Региональные КК РФ	Культура побегов, среда MS
<i>Orchidaceae</i>	<i>Anacamptis morio</i> (L.) R.M. Bateman, Pridgeon & M.W. Chase	Анакамптис морио	I категория КК РБ	Культура сеянцев, среда Fast
<i>Orchidaceae</i>	<i>Cypripedium calceolus</i> L. – 2 образца	Венерин башмачок настоящий	III категория КК РБ	Культура сеянцев, среда Fast
<i>Orchidaceae</i>	<i>Dactylorhiza incarnata</i> (L.) Soo – 5 образцов	Пальчатокоренник мясокрасный	Список профилактической охраны	Культура сеянцев, среда Fast
<i>Orchidaceae</i>	<i>Dactylorhiza baltica</i> (Klinge) Orlova – 3 образца	Пальчатокоренник балтийский	Список профилактической охраны	Культура сеянцев, среда Fast
<i>Orchidaceae</i>	<i>Dactylorhiza majalis</i> (Reichenb.) P.F. Hunt et Summerhayes – 2 образца	Пальчатокоренник майский	III категория КК РБ	Культура сеянцев, среда Fast
<i>Orchidaceae</i>	<i>Dactylorhiza ochroleuca</i> (Wüstneier ex Boll) Holub	Пальчатокоренник желтовато-белый	II категория КК РБ	Культура сеянцев, среда Fast
<i>Orchidaceae</i>	<i>Gymnadenia conopsea</i> (L.) R.Br.	Кокушник комарниковый	III категория КК РБ	Культура сеянцев, среда Fast
<i>Orchidaceae</i>	<i>Herminium monorchis</i> (L.) R.Br.	Бровник одноклубневый	I категория КК РБ	Культура сеянцев, среда Fast
<i>Orchidaceae</i>	<i>Liparis loeselii</i> (L.) Rich.	Лосняк Лёзеля	II категория КК РБ	Культура сеянцев, среда Fast



Рисунок 6.24. – Асептические культуры редких растений: слева – *Dactylorhiza incarnata* (L.) Soo (культура сеянцев); справа – *Gentiana cruciata* L. (культура побегов)

С целью пополнения коллекции редких растений сотрудники отдела регулярно участвуют в экспедициях на территории Республики Беларусь для отбора материала из природных популяций. За последние 5 лет исследовано более 30 локальных популяций редких видов растений и собран растительный материал.

Пополнение образцов идет и за счет обмена материалом между ботаническими садами, что преследует цель снизить риск их исчезновения из-за поддержания в ограниченном списке учреждений или коллекций. Так, в состав асептической коллекции были включены образцы из ботанических коллекций России, в том числе: Волгоградского регионального ботанического сада – *Artemisia hololeuca* M. Bieb. ex Besser, *Silene chalcedonica* E.H.L. Krause, *Chrysanthemum zawadskii* Herbich, *Dioscorea caucasica* Lipsky, *Lilium causicum* (Misch. ex Grossh.) Grossh. и др.; Центрального сибирского ботанического сада СО РАН – *Lilium distichum* Nakai, *Lilium cernuum* Kom., *Rhododendron dauricum* L. и др.; Таврического национального университета имени В.И. Вернадского – *Vitex agnus-castus* L. и многих других. Собранные в коллекциях образцы в дальнейшем могут быть использованы для сохранения генофонда в генетических банках при обеспечении их устойчивого средне- и долгосрочного хранения (в том числе в криобанке), а также для восстановления *in situ* популяций.

Полученные по обмену и собранные в результате экспедиционных обследований образцы редких и исчезающих видов после введения в культуру *in vitro* культивируются в климатических камерах при следующем режиме: температура $25 \pm 2^\circ \text{C}$, освещенность 3 000 лк (или в темноте), фотопериод 16 ч. Несмотря на общую концепцию культуры растений *in vitro*, культивирование каждого конкретного генотипа предполагает разработку отдельных модификаций и учет специфики биологии конкретного образца.

Создание ДНК банка. ДНК технологии применяются для разработки современной стратегии сохранения биоразнообразия. Создание банков ДНК – эффективный и долгосрочный подход, который используется для устойчивого хранения генетической информации таксонов – объектов исследования. ДНК банки – это хранилища образцов ДНК, например, хозяйственных растений и их диких сородичей, которые используются для сохранения биоразнообразия, научных исследований с целью выявления генов интереса более продуктивных и более адаптивных к внешним факторам среды хозяйственных культур. ДНК банки являются одним из источников создания Генбанков [49]. В сравнении с традиционными полевыми и семенными банками, ДНК банки предоставляют возможность оценивать динамику параметров ГР в естественных и воссоздаваемых популяциях

изучаемых видов, предоставляя возможность разработки научно-обоснованных практических рекомендаций по их охране. Для изоляции препаратов ДНК требуется небольшое количество образца (как правило листовой ткани). Препараты должны удовлетворять определенным характеристикам (A_{260}/A_{280} не ниже 1,8; содержание не ниже 10 нг/μl) и им должно быть обеспечено в дальнейшем устойчивое долговременное хранение (при -80°C).

Банк ДНК в ЦБС создан для целей интегрирования с существующими гербарными коллекциями, банками семян, полевыми коллекциями растений и как научное обеспечение для проведения исследований и деятельности по сохранению таксонов.

В настоящее время ДНК банк редких и хозяйственно ценных растений ЦБС состоит всего из 1 186 образцов ДНК различных таксонов этой категории, более 100 видов 7 родов 6 семейств, включая: пионы, сортовую сирень, рогульник, полушник озерный, сальвинию плавающую, орхидеи, пажитник греческий, голубику высокорослую, рододендроны, расторопшу пятнистую, многоколосник морщинистый и др. Так в 2014–2016 гг. банк ДНК пополнен более чем 60 образцами исторических и редких на коммерческом рынке сортов пиона молочноцветкового (*Paeonia lactiflora* Pall.) из коллекции сотрудничающей организации США Мэттай ботанический сад Николз Арборетум ботанического сада Мичиганского Университета, а также исчезающих видов рода пион (*Paeonia* L.). В таблице 6.12 приведен генетический паспорт образца № 264861/24.2 коллекции ДНК *Paeonia daurica* ssp. *mlokosewitschii* (Lomakin) D.Y. Hong, разработанный с использованием SRAP системы и хранящийся в отделе биохимии и биотехнологии растений ЦБС с целью оценки родственности генотипов рода *Paeonia* L., а также параметров генетического разнообразия *ex situ* популяций видов [50]. Проводится разработка методик введения в культуру и создание *in vitro* коллекции редких представителей рода пион (*Paeonia* L.) с целью их сохранения и размножения.

За последние 3 года ДНК банк был пополнен следующими образцами (367 образцов): в 2016 г. – 19 препаратами ДНК ценных пряно-ароматических культур: род чернушка (*Nigella* L.) – 11 видов и сортов; род амарант (*Amaranthus* L.) – 8 образцов. В 2017 г. – 41 препаратом ДНК злаковых трав (лисохвост луговой (*Alopecurus pratensis* L.), житняка гребенчатый – *A. cristatum* (L.) Beauv.); 260 препаратами ДНК золотарника канадского (*Solidago canadensis* L.) и золотарника гигантского (*Solidago gigantea* Ait.) – интродуценты, которые стали крайне агрессивными для природных экотопов Беларуси. В 2018 г. в банке зарегистрированы 24 образца рода

Таблица 6.12. – Генетический паспорт пиона Млокосевича (*Paeonias daurica* ssp. *mlokosewitschii* (Lomakin) D. Y. Hong), разработанный на основе SRAP локусов

№ в банке	Генотип	SRAP маркер			
		Me05Em01	Me05Em10	Me07Em10	Me07Em01
264861/24.2	<i>Paeonias daurica</i> subsp. <i>mlokosewitschii</i> (Lomakin) D. Y. Hong	Me05Em01 ₁₉₀₈ , Me05Em01 ₇₃₀ , Me05Em01 ₄₆₄ , Me05Em01 ₄₁₀ , Me05Em01 ₃₄₅ , Me05Em01 ₂₈₃ , Me05Em01 ₂₅₁ , Me05Em01 ₁₀₉	Me05Em10 ₈₆₉ , Me05Em10 ₇₄₈ , Me05Em10 ₄₈₅ , Me05Em10 ₃₄₁ , Me05Em10 ₂₉₆ , Me05Em10 ₁₉₉	Me07Em10 ₅₇₀ , Me07Em10 ₅₅₇ , Me07Em10 ₅₁₀ , Me07Em10 ₄₃₁ , Me07Em10 ₃₇₁ , Me07Em10 ₃₄₂ , Me07Em10 ₂₉₂ , Me07Em10 ₂₆₄ , Me07Em10 ₂₀₀ , Me07Em10 ₁₆₆ , Me07Em10 ₁₅₀	Me07Em01 ₁₁₆₈ , Me07Em01 ₅₂₅ , Me07Em01 ₃₅₆ , Me07Em01 ₃₀₈ , Me07Em01 ₂₃₈

сирень (*Syringa* L.), а также 23 образца горечавки крестовидной (*Gentiana cruciata* L.) – редкого для флоры Беларуси вида.

Используя современные молекулярно-генетические и биотехнологические методы, создана комплексная научно обоснованная схема поддержания, сохранения и изучения образцов в коллекциях ЦБС НАН Беларуси, которые являются частью национального и глобального биологического разнообразия, основой проведения широкого спектра научных исследований, реализации образовательных программ.

Все коллекции (полевые, семенные, асептические и ДНК коллекции) являются важным инструментом сохранения *ex situ* и использования биологического разнообразия растений, являются необходимым направлением деятельности ботанических садов. Для того чтобы сделать данные о коллекциях культур растений и банке ДНК ЦБС доступными для широкой научной аудитории, их описание представлено нами в сети интернет на страницах информационно-поисковой системы НВС-Info (<http://hbc.bas-net.by>).