

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ  
Центральный ботанический сад  
Научно-практический центр по биоресурсам  
Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича  
Институт леса



## **Проблемы сохранения биологического разнообразия и использования биологических ресурсов**

Материалы III Международной конференции,  
посвященной 110-летию со дня рождения академика Н.В. Смольского  
(7–9 октября 2015 г., Минск, Беларусь)

**В двух частях  
Часть 1**

**Секция 1. Ресурсы и биоразнообразие растительного мира:  
современное состояние, воспроизводство, охрана  
и устойчивое использование**

**Секция 2. Современные направления изучения  
ботанических коллекций для сохранения  
и рационального использования  
биоразнообразия растительного мира**

Минск  
«Конфидо»  
2015

УДК 502.174:574.1(082)

ББК 20.18я43

П78

**Редакционная коллегия:**

*д.б.н., чл.-кор. НАН Беларуси В.В. Титок (ответственный редактор),*

*д.б.н. Е.И. Анисимова,*

*к.б.н. Б.Ю. Аношенко,*

*к.б.н. Д.Б. Беломесецева,*

*к.б.н. П.Н. Белый,*

*д.б.н. Е.И. Бычкова,*

*к.б.н. Т.В. Волкова,*

*к.б.н. Л.В. Гончарова,*

*д.б.н. С.А. Дмитриева,*

*к.б.н. Е.Я. Куликова,*

*к.б.н. А.В. Пугачевский,*

*д.б.н., чл.-кор. НАН Беларуси В.П. Семенченко,*

*к.б.н. В.А. Цинкевич*

Материалы печатаются в авторской редакции.

Иллюстрации предоставлены авторами публикаций.

П78 **Проблемы сохранения биологического разнообразия и использования биологических ресурсов:** материалы III Международной научно-практической конференции, посвященной 110-летию со дня рождения академика Н.В. Смольского. (7–9 октября 2015, Минск, Беларусь). В 2 ч. Ч. 1 / Нац. акад. наук Беларуси [и др.]; редкол.: В.В. Титок [и др.]. – Минск: Конфидо, 2015. – 514 с.

ISBN 978-985-6777-74-8.

В сборнике представлены материалы III Международной научно-практической конференции «Проблемы сохранения биологического разнообразия и использования биологических ресурсов», посвященной 110-летию со дня рождения академика Н.В. Смольского. Часть 1: секция 1 «Ресурсы и биоразнообразие растительного мира: современное состояние, воспроизводство, охрана и устойчивое использование» и секция 2 «Современные направления изучения ботанических коллекций для сохранения и рационального использования биоразнообразия растительного мира».

**УДК 502.174:574.1(082)**

**ББК 20.18я43**

**ISBN 978-985-6777-74-8**

© ГНУ «Центральный ботанический сад  
Национальной академии наук Беларуси», 2015  
© Оформление. ЗАО «Конфидо», 2015

## Клональное микроразмножение – один из инструментов сохранения биоразнообразия растений

Кутас Е.Н., Веевник А.А., Титок В.В.

*Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Беларусь, E.Kutas@cbg.org.by*

**Резюме.** В последние годы проблеме биологического разнообразия и его сохранения придается большое значение. Интродукция растений рассматривается как один из возможных действенных методов сохранения биоразнообразия растений. Предложен альтернативный метод сохранения биоразнообразия растений – клональное микроразмножение.

**Summary.** Kutas E.N., Veyevnik A.A., Titok V.V. **Clonal micropropagation is one of the instruments of conserving biodiversity of plant.** 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.

Биоразнообразие – это главный средообразующий ресурс на планете, который обеспечивает возможность ее устойчивого развития и способствует сохранению равновесия биологических систем – источника среды обитания человека. В последнее время назрела острая 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 [1].

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 внутрипопуляционная 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 других, которые представляют жизненно важное значение для мирового сообщества.

Понятие «биоразнообразие» вошло в широкий научный обиход в 1972 году на Стокгольмской конференции ООН по окружающей среде, где экологи сумели убедить политических лидеров стран мирового сообщества в том, что охрана живой природы должна стать приоритетной при осуществлении любой деятельности человека на Земле. Через двадцать лет в 1992-м в Рио-де-Жанейро во время конференции ООН по окружающей среде и развитию была принята Конвенция о биологическом разнообразии, которую подписали более 180 стран.

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 многих стран мира подписали в 1992 году в Рио-де-Жанейро Конвенцию о биологическом разнообразии. В 1993-м 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 официально одобрены правительством (постановление Совета Министров Республики Беларусь от 26.06.1997 № 798).

20 декабря 2006 года Генеральная Ассамблея ООН своей [резолюцией 61/203](#) провозгласила 2010-й Международным годом биоразнообразия. 19 декабря 2008-го Ассамблея призвала государства выполнить их обязательства по значительному снижению к 2010 году темпов утраты биоразнообразия, уделяя надлежащее внимание данной проблеме в их соответствующих стратегиях и программах ([резолюция 63/219](#)). Ассамблея рекомендовала всем государствам создать для проведения Международного года биоразнообразия национальные комитеты, включающие представителей коренных народов и местных общин, и предложила всем международным организациям также отметить это событие. В поддержку Международного года биоразнообразия Ассамблея провела в 2010 году во время своей 65 сессии однодневное совещание высокого уровня с участием глав государств, правительств и делегаций. В Нагое (Япония) проходила 10-я конференция государств – участников Конвенции о биологическом разнообразии. На ней был одобрен стратегический план по сохранению различных видов животных и растений на 2011–2020 годы. 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 [2]. В последние годы проблеме биологического разнообразия и его сохранения придается большое значение. Интродукция растений рассматривается как один из возможных действенных методов сохранения их биоразнообразия.

Общезвестно, 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 НАН Беларуси. Интродукционному испытанию здесь подверглось около 100 редких видов местной флоры. Собрано более 9000 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 восточноазиатской и более 400 видов североамериканской флоры [2].

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 ЦБС НАН Беларуси.

Регенерировать растение *in vitro* можно несколькими методами: 1) через активацию пазушных меристем; 2) через индукцию соматического эмбриогенеза в каллусной культуре; 3) дифференциацией почек в каллусной культуре; 4) через соматический эмбриогенез в ткани экспланта; 5) дифференциацией почек в ткани экспланта [3].

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 – переменный. 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, брусники обыкновенной, виды рододендронов, селекционные гибриды, представителей семейства *Vacciniaceae* S.F.Gray.

Клональное микроразмножение взято на вооружение не случайно, оно экономически выгодно. Используя его, можно увеличить коэффициент размножения до  $10^6$  экземпляров в год с одного маточного растения, что в сотни тысяч раз больше по сравнению с обычными методами размножения. Получать здоровый 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) [6–14].

Лесная растительность Индонезии представлена влажными тропическими лесами. По величине лесопокрытой площади (1 220 000 км<sup>2</sup>) 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. [6, 7].

В литературе имеются публикации, свидетельствующие об успешном применении 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 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., *D. capillaris* Poir., *D. burkeana* Planch., *D. hiliaris* Cham. et Chlecht.), канарские эндемики, некоторые виды луков (пскемский, алтайский, сине-голубой), редкие виды орхидных умеренной зоны и многие другие. В результате комплексного исследо-

вания, проведенного по индуцируемому морфогенезу и регенерации, а также структурно-функциональной адаптации регенерантов при переносе их из культуральных сосудов в условия оранжереи и открытого грунта разработаны технологии клонального микро-размножения для ягодных растений (14 интродуцированных сортов голубики высокой и 5 сортов брусники обыкновенной) и декоративных растений (13 видов рододендронов и 5 сортов сирени обыкновенной) [3].

Представленные 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.

Разработаны три метода регенерации интродуцированных сортов голубики высокой, брусники обыкновенной, сирени, интродуцированных видов рододендронов:

- 1) через активацию пазушных меристем;
- 2) через 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 микро-размножения 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 более 30 видов и сортов представителей семейств *Vacciniaceae* S.F.Gray и *Ericaceae* Juss., служащий одним из путей сохранения биоразнообразия растений.

Стало быть, клональное микро-размножение можно использовать в качестве инструмента, способствующего поддержанию, сохранению и приумножению биоразнообразия растений.

#### Список литературы

1. Groombridge, B. Global Biodiversity. Earths living resources in the 21 st century / B. Groombridge, M.D. Jenkins. – Cambridge: World Conservation Monitoring Center. Hoechst foundation, 2000. – 247 p.
2. Первый национальный доклад по выполнению Конвенции о биологическом разнообразии в Беларуси. – Минск: БелЭКС, 1998. – 125 с.
3. Кутас, Е.Н. Клональное микро-размножение интродуцированных растений. Биологическое разнообразие растений. Его исследование, сохранение и использование в Республике Беларусь / Е.Н. Кутас, Е.А. Сидорович, В.Н. Решетников. – Минск: Технопринт, 2003. – С. 243–270.
4. Ortega, G. Contribucion a la conservacion "ex situ" de especies canarias in peligro: propagacion "in vitro" de *Senecio hermosae* Pitard / G. Ortega, A. Gonzales // Bot. Macaronesica. – 1985. – No 14. – P. 59–72.
5. Gonzales, A. Propagacion "in vitro" de endemismos canarios en peligro de extincion: *Euphorbia handiensis* Burchd / A. Gonzales, O. Gonzales, H. Rubio // Bot. Macaronesica. – 1988. – No 16. – P. 25–28.
6. L'application de techniques de culture in vitro a la multiplication d'espèces forestieres tropicales en Indonesie / I. Umboh [et al.] // Bull. Soc. Bot. Fr. Actual. Bot. – 1989. – Vol. 136, No 3–4. – P. 179–184.
7. Umboh, M.I.J. Prospects of realising man-made forest of Shorea species in Southeast Asian tropical lowland areas. (In) Ratnam, W., Ahmad Zuhaidi Yahya, Amir Husni Mohd Shariff, Darus Hj Ahmad, Khoo, K.C., Suzuki, K., Sakurai, S. & Ishii, K. (eds.), Proceedings of Kangar Workshop / M.I.J. Umboh, S.A. Yani // FRIM, Kepong & BIO-REFOR. – 1995. – P. 122–128.
8. Jainol, J.E. Micropropagation of Sentang (*Azadirachta excels* (Jack) Jacobs) / J.E. Jainol // Unpublished M.Sc. thesis. Faculty of Forestry, Universiti Putra Malaysia. – Serdang, 1997. – 184 p.
9. Nakamura, K. Micropropagation of *Shorea roxburghii* by shoot apex culture. (In) Bista, M.S., Joshi, R.B., Amatya, S.M., Parajuli, A.V., Adhikari, M.K., Saiju, H.K., Thakur, R., Suzuki, K. & Ishii, K. (eds.), Proceedings of Nepal Workshop / K. Nakamura, R. Soda, Y. Ide // BIO-REFOR. – 2000. – P. 105–108.
10. Laird, S.A. Linking biodiversity prospecting and forest conservation. In: Pagiola, S., Bishop, J. and Landell-Mills, N. (eds), Selling forest environmental services, Earthscan / S.A. Laird, K. Kate. – London, 2002. – P. 151–172.

11. Saujanendra Swain and Gopal Chandra Mohapatra. Multiple us ages of forest trees by the tribes of Kalahandi District, Orissa, India // *International Journal of Biodiversity and Conservation*. – 2013. – Vol. 5, No 6. – P. 333–341.
12. Diversity and regeneration status of tree species at Nainital catchment, Uttarakhand, India. Intl. / K. Bargali [et al.] // *J. Biodiv. Conserv.* – 2013. – Vol. 15, No 5. – P. 270–280.
13. Millán-Orozco, E., Corredoira and M.C. San José. In vitro rhizogenesis: histoanatomy of *Cedrela odorata* (Meliaceae) microcuttings” // *Revista de Biología Tropical (International Journal of Tropical Biology)*. – 2011. – Vol. 59. – P. 447–453.
14. In vitro propagation of tropical hardwood tree species – a review (2001–2011) / P.M. Pijut [et al.] // *Propagation of Ornamental Plants*. – 2012. – Vol. 12. – P. 25–51.