



**CCFBD 2017**

**The effect of climate change on the flora biodiversity**  
**19-21 September, Baku, Azerbaijan**

[www.dendrologiya.az](http://www.dendrologiya.az) e-mail: [dendrary@mail.az](mailto:dendrary@mail.az)

**“İqlim dəyişkənliyinin bitki biomüxtəlifliyinə  
təsiri”**

**Бейнəlxalq elmi konfransı**  
**MƏRUZƏLƏR TOPLUSU**

**Международная Научная Конференция**  
**«Влияние климатических изменений на**  
**биоразнообразии растений»**  
**СБОРНИК ДОКЛАДОВ**

**The International Scientific Conference**  
**"The impact of climate change on the plant**  
**biodiversity”**  
**COLLECTION OF LECTURES**

**AZƏRBAYCAN MİLLİ ELMLƏR AKADEMİYASI**  
Biologiya və Tibb Elmləri Bölməsi  
Dendrologiya İnstitutu

**RUSİYA ELMLƏR AKADEMİYASI**  
MDB Botanika Bağları Cəmiyyəti  
N.V.SİSİN adına baş botanika bağı

**“İqlim dəyişkənliyinin bitki biomüxtəlifliyinə təsiri”**  
**Beynəlxalq elmi konfransı**  
*Azərbaycan, Bakı, AMEA Dendrologiya İnstitutu*  
*19-21 sentyabr 2017-ci il*

---

**НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК АЗЕРБАЙДЖАНА**  
Отдел Биологических и Медицинских Наук  
Институт Дендрологии

**РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК**  
Совета Ботанических Садов стран СНГ  
Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина

**Международная Научная Конференция**  
**«Влияние климатических изменений на**  
**биоразнообразие растений»**  
*Азербайджан, Баку, Институт Дендрологии НАНА*  
*19-21 сентября 2017*

---

**AZERBAIJAN NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES**  
Department of Biological and Medical Sciences  
Institute of Dendrology

**RUSSIAN ACADEMY OF SCIENCES**  
The Society of Botanical Gardens of the CIS countries  
The Main Botanical Garden named after N.V.Tsitsin

**The International Scientific Conference**  
**"The impact of climate change on the plant biodiversity"**  
*Azerbaijan, Baku, Institute of Dendrology of ANAS*  
*19-21 September 2017*

# ПЕРСПЕКТИВЫ ИНТРОДУКЦИИ И МИКРОКЛОНАЛЬНОГО РАЗМНОЖЕНИЯ МАГНОЛИЙ В БЕЛАРУСИ

Спиридович Е.В., Гаранович И.М.

Рассматриваются вопросы интродукции и биотехнологические приемы размножения магнолий, как наиболее перспективного метода массовой репродукции, способствующего активному внедрению этого рода в практику зеленого строительства Беларуси.

**Ключевые слова:** *магнолия, интродукция, культура in vitro.*

## PERSPECTIVES OF INTRODUCTION AND MICROCLONAL PROPAGATION OF MAGNOLIUM IN BELARUS

Spiridovich EV, Garanovich IM

The article deals with the perspectives introduction and micropropagation of magnolia as the most promising method of mass reproduction leading to active introduction of the genus in green planting in Belarus.

**Keywords:** *magnolia, introduction, in vitro culture.*

### ВВЕДЕНИЕ:

Многие виды реликтовых растений семейства Magnoliaceae находятся под угрозой исчезновения. В дикой природе почти наполовину (48%) сократилось число видов магнолий, одной из древнейших групп растений, которые пережили эпохи глобальных климатических изменений. Исчезновение магнолий вызвано главным образом изменением среды их обитания из-за резких колебаний климата. Именно коллекции *ex situ* ботанических садов, дендрариев, семенных банков являются жизненно важной гарантией сохранности видов магнолий и могут быть использованы для исследований уникальных адаптивных механизмов реликтов, их распространения в декоративном садоводстве, а также для репатриации в дикую природу [1, 2].

Следует сказать, что любое растение, используемое в коммерческих целях, становится потенциальным кандидатом на включение в группу видов, находящихся под угрозой исчезновения. Решить проблему дефицита сырья и сохранить в природе ценные растения помогут биотехнологические разработки. То есть, создание биотехнологических коллекций представляют большую ценность не только для экологических целей (сохранения видов), но и имеют большое экономическое значение. Поэтому наряду с традиционными методами сохранения растений *ex situ* как принято во всех ботанических садах, все большее значение приобретает использование для этих целей биотехнологических коллекций. В последние десятилетия во многих странах возрос интерес к биотехнологическим коллекциям растительных объектов. Основная цель создания подобных коллекций - надежное сохранение растительного генофонда, прежде всего редких и исчезающих видов растений, а также видов, для которых традиционные методы хранения не эффективны. В практике создания, поддержания и использования биотехнологических коллекций существуют следующие основные направления: сохранение генетических ресурсов в пересадочных коллекциях (растения *in vitro*, культуры органов и клеток); депонирование растительных объектов при пониженных температурах и хранение растительных объектов в криобанках [3,4].

С 2005 г. в ЦБС создана и постоянно расширяется коллекция асептических культур хозяйственно-полезных растений. В настоящее время в ней представлено 242 таксона из более чем 20 семейств покрытосеменных растений. Создание коллекции *in vitro* является эффективным и полезным приемом для поддержания коллекций ценных форм растений. Приоритетными для длительного хранения являются редкие и исчезающие виды, а также хозяйственно ценные (лекарственные, декоративные, пищевые, кормовые и др.). Сохранение генофонда в культуре *in vitro* позволяет поддерживать генетические коллекции растений без изменения их наследственной природы [5].

Разработка методов культивирования *in vitro* различных видов растений создает предпосылки для применения принципиально новых подходов их размножения.

Преимуществами микрклонального размножения растений в сравнении с традиционными методами являются:

- 1) значительно более высокий коэффициент размножения;
- 2) миниатюризация процесса, приводящая к экономии площадей, занятых маточным и размножаемыми растениями;
- 3) возможность проведения работ в любой сезон года;
- 4) оздоровление посадочного материала от патогенных микроорганизмов, вирусов (при использовании в качестве первичного экспланта меристемной культуры).
- 5) размножение растений, трудно размножаемых традиционными способами [3].

#### **Цель исследования:**

оценка видового состава семейства Магнолиевые (*Magnoliaceae*) коллекции ЦБС и разработка методов введения в культуру *in vitro* видов этого семейства.

#### **Материалы и методы:**

Объектами исследования служили виды и культивары магнолий, произрастающих в ЦБС НАН Беларуси.

#### Список растений сем. *Magnoliaceae* на территории ЦБС:

	<b>семейство</b>	<b>род</b>	<b>вид</b>	
1	<i>Magnoliaceae</i>	<i>Liriodendron</i>	<i>tulipiferum</i>	L.
2	<i>Magnoliaceae</i>	<i>Magnolia</i>	<i>chapensis</i>	(Dandy) Sima
3	<i>Magnoliaceae</i>	<i>Magnolia</i>	<i>grandiflora</i>	L.
4	<i>Magnoliaceae</i>	<i>Magnolia</i>	<i>hypoleuca</i>	Siebold et Zucc.
5	<i>Magnoliaceae</i>	<i>Magnolia</i>	<i>kobus</i>	DC.
6	<i>Magnoliaceae</i>	<i>Michelia</i>	<i>figo</i>	(Lour.) Spreng.

Виды под номером 4, 5, взятые на введение в культуру *in vitro*. Использовали фенологический метод для определения роста и развития, зимостойкости растений [6]. Микрклональное размножение проводилось по [3].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ:

Представители семейства Магнолиевые (*Magnoliaceae*) являются частью культурного ландшафта ЦБС. Коллекция семейства Магнолиевые (*Magnoliaceae*) в ЦБС представлена не достаточно широко, около 25 таксонов двух родов и шести видов [2].

*Один из наиболее представленных видов – Magnoliakobus DC. (Магнолия кобус).*

Видовое название связано с японской традицией называть каждый вид магнолий именем собственным. «Кобуси» по японски означает «магнолия» именно этого вида. Это дерево до 20 м высотой в естественных условиях и до 10-15 м в высоту в культуре. Видоустойчивый, однако, если в первые годы жизни повреждается верхушечная почка, растение развивается как кустарник. Кора ствола темно-серая, слегка трещиноватая, у молодых побегов коричнево-оливковая, гладкая у многолетних серовато-коричневая. Крона широкопирамидальная или широкоовальная 6-7 м в диаметре. Листовые почки слегка опушены, цветочные значительно крупнее, шелковистоопушенные. Листья широкообратнояйцевидные, коротко заостренные на верхушке, клиновидные в основании 10-12 см дл., до 6 см шир., зеленые сверху, бледнее снизу. Черешки тонкие, до 2,5 см дл. Цветки ароматные, молочно-белые, 10 см в диаметре, чашелистиков три, они мелкие, лепестков шесть, на наружной стороне у основания тонкие пурпурные полоски. Тычинки многочисленные, гинецей издо конца апреля, до распускания листьев, плодоносит в начале октября. Естественный ареал: Центральная и Северная Япония, южная часть Корейского полуострова, где растет по склонам гор, у горных потоков. Интродуцирована в Англию в 1879 г. В ЦБС она растет в секторе на вновь созданной экспозиции «Сад магнолий». Ежегодно в середине апреля покрывается до появления листьев белыми бутонами, которые частично покрыты густо опушенными чешуйками. С середины и до конца апреля растение цветет тысячами душистых цветков. В то же время развиваются листья, а в мае, когда заканчивается цветения, магнолия покрывается листьями [1, 2].

В ЦБС почва – среднекультуренная, дерново-подзолистая, легкосуглинистая, развитая на легких пылевато-песчаных суглинках, подстилаемых на глубине 1 м моренными суглинками. Процесс оподзоливания морфологически выражен в слабой степени, перегнойный горизонт мощностью до 25 см, окрашен гумусовыми веществами в темно-серый цвет. Содержание физической глины в нем составляет 20,7-25,5%, тогда как крупной пыли достигает 26-28%. Содержание гумуса в верхнем горизонте весьма незначительно и не превышает 2,3-2,5%, при слабокислой реакции почвенного раствора (рНКСЛ 6,1-6,5) и содержании поглощенных оснований 6-10 мг-экв. на 100 г почвы. По содержанию в почве подвижных форм основных питательных элементов ( $P_2O_5$ –34-40 мг/100 г,  $K_2O$  – 14-15 мг/100 г) она может быть отнесена к среднеобеспеченным ими почвам.

Характер климатических условий района исследований определяется его вхождением в умеренно-континентальную климатическую зону с теплым летом и мягкой зимой. Морские воздушные массы, приносимые на территорию Беларуси циклонами с Атлантического океана или Средиземного моря, содержат повышенное количество влаги, дающей прохладу летом и тепло зимой. Приход же воздушных масс с континента обуславливает жаркую сухую погоду летом и весьма холодную зимой. Чередование воздушных масс разного происхождения создает характерный для центральной агроклиматической зоны Беларуси, особенно для холодного полугодия, неустойчивый тип погоды. Зима в ней обычно довольно мягкая, с переменной и в основном пасмурной погодой, с частыми оттепелями и продолжительными, хотя и не очень обильными осадками. По многолетним данным, число дней с оттепелями составляет 40-50, со снежным покровом – 70-95. В 30% случаев зимой не образуется устойчивого снежного покрова, запас воды в нем невелик и слабо влияет на влагообеспеченность почв. Но

бывают и холодные периоды, чаще всего в январе-феврале. Абсолютный минимум температур составляет 22-26 °С, достигая в отдельные годы 36 °С. Лето теплое, но не жаркое, с частыми кратковременными дождями. Весенний период, как правило, солнечный, но с возвратом холодов вплоть до мая месяца. Сумма осадков за год составляет 500-640 мм, из них за теплый период выпадает 345-455 мм [7,8].

В данный момент асептическая коллекция клеток и тканей востребованных хозяйственно ценных и редких растений ЦБС не содержит представителей семейства Магнолиевые (*Magnoliaceae*).

Для введения отобранных таксонов магнолий в культуру *in vitro* побеги заготавливали в феврале – марте месяце. Отбирались побеги с хорошо выраженными пазушными почками и междоузлиями. Срезанные побеги помещают в банках с водопроводной водой в условия холодильника (температура 10-12°С), где выдерживают в течение 3–5 суток для их холодной предобработки перед изоляцией эксплантов. Каждые три дня проводится обновление срезов и смена воды. Данные образцы от материнских растений использовались в качестве первоначальных эксплантов. Образцы ставили в воду при комнатной температуре для набухания, раскрытия почек и элонгации побегов [3, 9].

Вследствие того, что микроорганизмы хорошо развиваются на искусственных питательных средах следует избегать контаминации. Поэтому во избежание заражения среды, для успешного культивирования изолированных органов, тканей, клеток и протопластов растений применяется жесткий контроль за соблюдением условий стерильности. Контаминация среды опасна тем, что микроорганизмы в ходе жизнедеятельности выделяют метаболиты, которые существенно изменяют состав питательных сред. Также изолированные растительные ткани, клетки и в особенности протопласты легко повреждаются микроорганизмами. Вследствие этого все опыты проводят в условиях повышенной стерильности.

Важным условием получения асептической культуры является подбор оптимальных способов стерилизации растительного материала перед введением в условия *in vitro*, поскольку поверхности органов растений содержат споры разных микроорганизмов и грибов. При этом важно не только обеспечить достаточную степень чистоты растительного материала, но и сохранить его жизнеспособность.

Для получения культуры тканей и органов, свободных от инфекций, применяли ступенчатую стерилизацию. Выделенные набухшие пазушные почки с кусочком стебля (1–3 см.) в нестерильных условиях отмывали в хозяйственном 72%-ном мыле в течение 1–2 минут, далее экспланты помещались в дистиллированную воду с добавлением небольшого количества аскорбиновой кислоты на 2–3 минуты для нейтрализации остатков щёлочи после стерилизации мылом. Второй этап стерилизации: экспланты помещали в раствор «Хлороцида» производства ЗАО «Беласептика» с добавлением капли детергента. Раствор готовится из расчёта 1 таблетка на 450 мл дистиллированной воды. Длительность второго этапа стерилизации составляет 30 минут. Далее Экспланты промывали дважды дистиллированной водой и переносили в стерильные условия для дальнейшей работы. Простерилизованные побеги разрезают в асептических условиях на сегменты величиной 1,5–2 см с одной пазушной почкой (культуральные экспланты). Экспланты магнолии и тюльпанного дерева в асептических условиях (в ламинар-боксе) помещали в вертикальном или слегка наклонном положении в культуральные сосуды (стеклянные биологические пробирки) с питательной средой.

Основной питательной средой выбрана среда Мурасиге и Скуга (МС) с добавлением регуляторов роста – ВАР и ИР. Питательная среда МС является одной из наиболее часто используемых сред при культивировании изолированных тканей и органов растений. Данная среда является хорошо сбалансированной по минеральному составу и выбрана как

оптимальная для размножения *invitro* многих представителей рода *Magnolia* и *Liriodendron* на этапе введения [10].

Экспланты культивировали в следующих условиях: фотопериод – 16/8 часов свет/темнота, освещённость – 2–3 клк, температура – 24±1 °С.

Важной на этом этапе, в особенности для древесных растений, является проблема полифенолов. При механической изоляции экспланта возникает стрессовая ситуация, в которой синтез полифенолов усиливается. В культуре *in vitro* полифенолы окисляются полифенолоксидазами. Продукты окисления ингибируют активность ферментов, вызывают потемнение ткани и среды, что может привести к гибели экспланта. Для борьбы с этим явлением можно использовать антиоксиданты путем добавления в состав питательной среды или обработки экспланта перед помещением на среду. В качестве антиоксидантов используют поливинилпирролидон, аскорбиновую кислоту, дитиотриэтол и др. Возможно добавление в состав среды активированного угля.

Таким образом, в процессе введения в культуру *in vitro* отработаны следующие этапы: выбор растения-донора, изолирование и стерилизация экспланта, создание условий для его роста на питательной среде *in vitro*, стабилизация культуры; собственно микроразмножение (мультипликация) путем микрочеренкования побега, сохраняющего апикальное доминирование.

### **ВЫВОДЫ:**

Существующая видовая коллекция *ex situ* в ЦБС НАН Беларуси имеет значительные перспективы расширения за счет интродукции из соседних регионов России, Украины, Прибалтики. Все имеющиеся культивары устойчивы к зимним и летним климатическим факторам. Некоторые лимитирующие факторы компенсируются организацией соответствующих мер ухода, в первую очередь – полив и мульчирование приствольных кругов. При этом нивелируются отрицательные воздействия на растения дефицита влаги в почве и воздухе и значительно расширяются возможности интродукции представителей этого рода. Для некоторых видов – *Magnoliakobus* DC и *Magnolia hypoleuca* Sieboldet Zucc. – предложено сохранение в культуре *in vitro*, что будет являться маточником, донором для расширенного воспроизводства и тиражирования, а также для получения каллуса как основы производства суспензионной культуры с повышенным синтезом биологически-активных веществ, так и в селекционных целях.

### **СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:**

1. Минченко, Н.Ф., Коршук Т.П. Магнолии на Украине / Н.Ф. Минченко, Т.П. Коршук. – Киев, 1987. – 184 с.
2. Палагеча, Р. Представители семейства *Magnoliaceae* Juss., произрастающие в разных климатических зонах, в коллекциях ботанических садов Киевского национального университета имени Тараса Шевченко и Латвийского университета. / Р. Палагеча, Н. Таран, А. Галенице, С. Томсоне // Биология. – 2016. – № 1(71). – С. 51 – 57.
3. Клеточная биотехнология: учеб. пособие/ Г.П. Пинаев [и др.]. — СПб.: Изд-во Политехн. ун-та, 2012. — 214 с.
4. Создание коллекции асептических культур хозяйственноценных растений с молекулярно-генетическим типированием образцов/ Е.В. Спиридович [и др.]// Биотехнологические приемы в сохранении биоразнообразия и селекции растений: сб. ст. Междунар. науч. конф., Минск, 18–20 авг. 2014 г./ Нац. акад. наук Беларуси, Центр. ботан. сад; ред. В.Н. Решетников [и др.]. — Минск, 2014. — С. 228–230.
5. Решетников, В.Н., Спиридович Е.В. Научные и практические аспекты развития биотехнологии растений в Республике Беларусь / В.Н. Решетников, Е.В. Спиридович //

- Труды Белорусского государственного университета. Серия «Физиологические, биохимические и молекулярные основы функционирования биосистем». – 2012. – Т.7, ч. 1. – С. 57–71.
6. Методика фенологических наблюдений в ботанических садах / Под ред. Л.И. Лапина. – М: ГБС АН СССР, 1972. – 135 с.
  7. Климат Минска / Под ред. М.А. Гольберга.– Минск: Высшая школа, 1976. – С.14–19.
  8. Гаранович, И.М. Технологический регламент семенного размножения магнолий. Нац. акад. наук Беларуси, Центр. бот. сад. / И.М. Гаранович, Т.В. Шпитальная, В.Г. Гринкевич. – Минск: Право и экономика, 2015. – 18 с.
  9. Способ выращивания посадочного материала: пат. 2485755 РФ, МПК А 01 G 01/00 / А.И. Сиволапов, Т.Е. Галдина, Т.М. Табацкая, О.С. Машкина; заявитель Общество с ограниченной ответственностью "ИНВИТРО"; завил: 28.10.2011; опубл. 21.09.2011 // Независимы научно-технический портал.
  10. Physiological response of in vitro cultured magnolia sp. o nutrient medium composition. Rossen s. Sokolov, bistra y. Atanassova, elena t. Iakimova. Journal of Horticultural Research 2014, vol. 22(1): 49-6.