

УДК 573.6:58.08.523

Е.В. МАЛАЕВА
(Волгоград)

БИОТЕХНОЛОГИЯ КАК СОВРЕМЕННЫЙ МЕТОД СОХРАНЕНИЯ БИОРАЗНООБРАЗИЯ

Наряду с традиционными методами сохранения растений ex situ применение культуры изолированных тканей и органов становится все более и более актуальным. В результате исследований оптимизированы условия культивирования редких и ценных культур на разных этапах клонального микроразмножения. Подобраны оптимальные условия культивирования (тип и концентрация гормонального состава питательной среды) на этапе микроразмножения и укоренения. Создана коллекция in vitro редких и ценных видов растений (около 200 наименований).

Ключевые слова: *in vitro*, клональное микроразмножение, питательные среды, пролиферация, укоренение *in vitro*, адаптация, редкие виды, биоразнообразие.

ELENA MALAEVA
(Volgograd)

BIOTECHNOLOGY AS A MODERN METHOD OF BIODIVERSITY CONSERVATION

In line with the traditional methods of the conservation of the plants ex situ, the use of the culture of the isolated tissue and organs is becoming more and more relevant. In the result of the studies there are optimized the conditions of the cultivation of the rare and precious cultures at the different stages of clonal micro-propagation. There are chosen the optimal conditions of cultivation (type and concentration of the hormonal composition of the nutrient solution) at the stage of the micro-propagation and rootage. There is created the collection in vitro of the rare and precious species of the plants (near 200 items).

Key words: *in vitro*, clonal micropropagation, medium nutrient, proliferation, rooting *in vitro*, adaptation, rare species, biodiversity.

Современная биология дает развитие многим направлениям практических исследований. К таким исследованиям относится биотехнология, в том числе направление сохранения биологического разнообразия методом стельных культур *in vitro*.

Подготовка специалистов для работы в области сохранения биоразнообразия основана на базовом естественнонаучном образовании и на базе Волгоградского государственного социально-педагогического университета включает следующие дисциплины: Ботаника, Экология, Учение о биосфере, Многообразие растений Земли. Ключевую роль в области сохранения биоразнообразия играет взаимодействие между регионами и государствами. Популяции многих редких видов произрастают не локально, а чаще всего встречаются на территории как сопредельных регионов, так и разных государств. Например, копечник крупноцветковый в России встречается на Среднем и Нижнем Дону, на Приволжской возвышенности, в Заволжье, в Ергенях, на Южном Урале, в Республиках Башкортостан, Татарстан, Калмыкия, в Белгородской, Волгоградской, Воронежской, Оренбургской, Ростовской, Самарской, Саратовской, Ульяновской и Челябинской областях. Вне России встречается в Болгарии, Румынии и на Украине [3, 4].

Правовые основы сохранения биологического разнообразия находят отражение в различных Конвенциях, Программах и Списках различного уровня [2, 8, 10].

Наиболее важным международным документом по сохранению и защите объектов растительного и животного мира является Международная Конвенция о торговле видами дикой фауны и флоры, находящейся под угрозой исчезновения (СИТЕС) (Convention on International Trade in Endangered Species, SITES) [9], которая берет свое начало с 1973 г. вместе с Программой ООН по окружающей среде (ЮНЕП) [12]. В Приложение Конвенции входит 675 видов животных и растений, торговля которыми запрещена. Среди объектов растительного мира к таким видам отнесены орхидеи, саговники,

кактусы, папоротники, насекомоядные растения и достаточно большое количество видов древесных растений.

Самым эффективным способом сохранения биологического разнообразия является создание условий для сохранения природных сообществ или популяций в диких, естественных условиях *in situ*. К сожалению, не все виды можно сохранить в естественных условиях, поэтому страховочными методами сохранения выступают искусственные условия – *ex situ*.

В настоящее время именно ботанические сады играют важнейшую роль в сохранении биологического разнообразия в условиях *ex situ*. В мире насчитывается 1600 ботанических садов, в которых сохраняется около 30% мировой флоры. Ботанические сады ориентируются на сохранение редких и исчезающих видов растений, занесенных в Красные книги и различные международные Конвенции и Списки.

Особенно актуальны в последнее время методы биотехнологии для сохранения редких видов, которые позволяют в короткие сроки размножить ценные экземпляры растений с минимальным ущербом для природных популяций.

При организации биотехнологических работ с редкими видами растений необходимо руководствоваться следующими критериями и принципами:

1. принцип целосообразности биотехнологических исследований;
2. принцип обоснованности;
3. учитывать особенности жизненной формы и эколого-биологические особенности вида;
4. возраст, строение и происхождение первичного экспланта;
5. принадлежность видов к одной из категорий редкости;
6. практическая ценность видов (лекарственные, декоративные, пряно-ароматические и др.)
7. виды, имеющие трудности при использовании традиционных способов размножения.

Коллекция редких видов *in vitro* очень динамична и постоянно пополняется. На базе лаборатории биотехнологии цикл культивирования *in vitro* прошли более 100 видов редких растений. На этапе введения в культуру в качестве первичных эксплантов использовали семена из природных популяций, апикальные и латеральные меристемы, пазушные почки, сегменты лукович и изолированные зародыши. В своих исследованиях для представителей семейства Бобовые (*Fabaceae* Lindl.), Сложноцветные (*Asteraceae* Dumort.), Крестоцветные (*Brassicaceae* Burnett), Гвоздичные (*Caryophyllaceae* Juss.) в качестве первичных эксплантов использовали апикальные меристемы и семена, собранные из природных популяций, которые максимально отражают генетическое разнообразие видов. Для представителей однодольных растений, например, *Iris tenuifolia* Pall., *Gladiolus tenuis* Bieb., *Belamcanda chinensis* (L.) DC., *Allium regelianum* A.Beck., *Allium gunibicum* Misch. ex Grossh., *Bulbocodium versicolor* (Ker-Gawl.) Spreng. Для введения в культуру *in vitro* использовали сегменты лукович и изолированные зародыши.

В условиях *in vitro* растения культивировали в чашках Петри и биологических пробирках при освещении с интенсивностью 3–5 клк, при 16-часовом фотопериоде, температуре 24 °C и относительной влажности воздуха 70%.

Разработка технологии клонального микроразмножения любого редкого вида стандартно складывается из следующих этапов: подбор, изоляция и стерилизация исходного экспланта; этап микроразмножение с оптимизацией прописи питательной среды и состава фитогормонов для устойчивой пролиферации; укоренение растений-регенерантов в условиях асептической культуры; адаптация полученных растений к условиям *ex vitro*.

Многие авторы указывают на важнейшие факторы, которые определяют морфогенетические процессы в культуре *in vitro*: таксономическая принадлежность, генетические особенности растений-регенерантов, физиологическое состояние маточных растений, инициального экспланта, состав питательной среды, условия культивирования [5–7].

Ключевую роль на этапе микроразмножения играет подбор оптимальной прописи питательной среды, а также типа и концентрации фитогормонов. Для большинства редких видов использовали полную или разбавленную вдвое питательную среду Т. Мурасиге и Ф. Скуга (МС), ½ МС [11] с добавлением от 0,1 до 2 мг/л (6-бензиламинопурина) 6-БАП, 20–40 г/л сахарозы и 6–8 г/л агар.

Для представителей однодольных растений использовали питательные среды Гамборга и Эвеллега (В5) (Gamborg, Eveleigh, 1968) и Кнудсона (Кн) (Knudson, 1925) [1]. На питательной среде Кн у *Iris tenuifolia* и *Gladiolus tenuis* наблюдали замедленный, но достаточно равномерный рост в сочетании с минимальным количеством растений-регенерантов с аномальным развитием. Через месяц культивирования растения были нормальной морфологии и низким количеством отмерших листьев. Таким образом, использование питательной среды Кн для однодольных растений позволит длительно хранить ценные генотипы *in vitro*.

На этапе укоренения использовали β-индолилуксусную кислоту (ИУК), β-индолилмасляную кислоту (ИМК) и α-нафтилуксусную кислоту (НУК) в интервале концентраций от 0,01 мг/л до 5,0 мг/л.

Наиболее уязвимый этап в технологии размножении *in vitro* – пересадка микрорастений из стерильной среды в почтенный субстрат. Это связано с резким изменением условий: снижение влажности воздуха, качественный состав питательных веществ и их доступность. Растению необходимо перестраивать систему транспирации и корневого питания. Кроме того, в этот период растения подвержены поражению бактериальной и грибной инфекцией, т. к. слабое развитие покровной системы, отсутствие опушений, кутикулы, полностью открытые устьица позволяют микроорганизмам легко проникать в растение и вызывать заболевания и как следствие – гибель. Именно для этого почвенный субстрат для адаптации растений прокалывают, прогревают или обрабатывают фунгицидами, например Фитоспорином-М.

Соблюдение всех условий адаптации позволяет получить выход адаптированных растений в пределах 60–75%.

Таким образом, методы биотехнологии являются дополнительным вариантом сохранения редких видов *ex situ*. Они позволяют получать большое число растений для последующего их использования в экспериментах по восстановлению численности природных популяций, а также для культивирования в открытом грунте в ботанических садах.

Литература

1. Калинин Ф.Л., Кушнир Г.П., Сарнацкая В.В. Технология микрклонального размножения растений. Киев: Наукова думка, 1992.
2. Конвенция о биологическом разнообразии: Текст и прил. NEP/CBD/COP/8/12, 2006.
3. Красная книга Волгоградской области Т. 2. Растения и другие организмы / под ред. д.б.н., проф. О.Г. Барановой, д.б.н., проф. В.А. Сагалаева. Воронеж: ООО «Издат-Принт», 2017.
4. Красная книга Российской Федерации (растения и грибы) / сост. Р.В. Камелин и др. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2008.
5. Самарская В.О., Малаева Е.В., Постнова М.В. Аспекты клонального микроразмножения и сохранения растений *in vitro* // Природные системы и ресурсы. 2019. Т. 9. № 3. С. 13–22.
6. Малаева Е.В. Сохранение редких видов растений в коллекции *in vitro* Волгоградского регионального ботанического сада // Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии. 2019. № 18. С. 606–610.
7. Молканова О.И., Горбунов Ю.Н., Ширнина И.В. [и др.] Применение биотехнологических методов для сохранения генофонда редких видов растений // Ботанический журнал. 2020. Т. 105. № 6. С. 610–619.
8. Стратегия ботанических садов России по сохранению биологического разнообразия растений. М.: Красная Звезда, 2003.
9. CITES: [сайт]. URL: <https://cites.org/eng>.
10. Global Strategy Plant Conservation: [сайт]. URL: https://www.bgci.org/files/7/0/global_strategy.pdf.
11. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Phsiol. Plant. 1962. Vol. 15. № 3. P. 473–497.
12. UNEP – UN Environment Programme: [сайт]. URL: <https://www.unep.org>.