

МЕТОД КУЛЬТУРЫ *IN VITRO* КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЙ СПОСОБ СОХРАНЕНИЯ РЕДКИХ ВИДОВ И ПОЛУЧЕНИЯ ВЫСОКОКАЧЕСТВЕННОГО, ОЗДОРОВЛЕННОГО ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА КУЛЬТУРНЫХ РАСТЕНИЙ

Введение. В настоящее время одной из наиболее острых экологических проблем является стремительное сокращение ареалов распространения и полное исчезновение многих видов растений. Биологическое разнообразие является основой для поддержания экологических условий существования экономического развития человеческого общества, генетические ресурсы являются основным источником селекционно-важных признаков.

Чтобы обеспечить питанием растущее население нашей страны, необходимо выведение новых, более продуктивных сортов сельскохозяйственных растений, а для успешной селекции важен постоянный приток генов из новых источников. Традиционным источником генетического материала служат дикие виды растений. Однако в связи с расширением городов, сельскохозяйственных угодий, вырубкой лесов, ухудшением экологической обстановки такие виды постепенно вытесняются, а многие из них находятся на грани вымирания, поэтому их необходимо сохранить.

Сохранение разнообразных форм жизни — важнейшая проблема современного человечества. Традиционные способы сохранения биоразнообразия — заповедники, ботанические сады, коллекции семян растений — не лишены недостатков. Так, заповедники не дают полной гарантии сохранения всех видов растений, произрастающих на территории, что обусловлено расширением сельскохозяйственных угодий и несанкционированной вырубкой лесов. В ботанических садах обычно сохраняются только определенные виды растений или отдельные их представители.

Все это является предпосылкой создания принципиально новых способов сохранения разнообразия генофонда растительных и животных организмов, а также человека. В последнее время большое внимание уделяется такому новому способу, как создание коллекции семян растений и сохранение генофонда в условиях культуры *in vitro*.

Основная часть. Сохранение генофонда растений в условиях *in vitro* — прием, подразумевающий использование коллекций каллусных культур растений, растений-регенерантов, полученных методом культуры тканей, суспензионных культур, депонирование культур клеток и криосохранение [1].

Культуры изолированных тканей также широко используются в сельском, лесном хозяйстве и промышленном производстве для получения высококачественного, оздоровленного посадочного материала. Метод культуры *in vitro* обладает неоспоримыми преимуществами перед традиционными способами получения растительного сырья: 1) независимостью от внешних условий и возможностью проведения работ в течение всего года; 2) оптимизацией условий выращивания, автоматизацией и компьютеризацией процессов; 3) способностью получения генетически однородного посадочного материала; 4) возможностью массового получения плодово-овощных, декоративных и лесных культур с высоким коэффициентом размножения; 5) перспективой сохранения редких и исчезающих видов растений; 6) служит средством оздоровления растений от большинства вирусных и микоплазменных инфекций; 7) возможностью расширения и упрощения селекционной работы (поддержание и размножение небольшого числа отдельных генотипов, быстрое размножение новых сортов, поддержание коллекций гетерозисных гибридов и др.) [2].

Несмотря на то, что данный метод получения растений сравнительно молод, однако он уже успел занять лидирующие позиции в мировом и отечественном производстве посадочного материала. Ведущими странами в этой области являются США, Нидерланды, Индия, Израиль, Италия и Польша. В США микроразмножением занимаются около 100 лабораторий, производительность которых достигает до 15—20 млн растений в год. Лидером по использованию культуры *in vitro* для получения растений в Западной Европе являются Нидерланды (около 70 лабораторий). Это связано с традиционной ориентацией страны на производство декоративных культур, таких как орхидные и луковичные.

Италия специализируется на микроразмножении подвоев яблони, сливы и персика. Главным направлением работы индийских ученых является производство плодовых, лесных, овощных, ароматических и декоративных растений.

В Республике Беларусь существует около 30 лабораторий, занимающихся клональным микроразмножением растений. Крупнейшие из них созданы на основе научно-исследовательских центров и институтов: РУП «Институт плодородства», РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по картофелеводству и плодово-овощеводству», БГСХА, Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Институт леса НАН Беларуси и др.

Ведущей культурой, размножаемой *in vitro* в республике, является картофель (*Solanum tuberosum*), что связано с традиционным производством этой культуры в личном и общественном секторе. В Институте

плодоводства отработаны методики клонального микроразмножения земляники садовой (*Fragaria × ananassa* Duch.), смородины черной (*Ribes nigrum*), сортов и клоновых подвоев яблони (*Malus domestica*). Сотрудниками научно-исследовательской лаборатории клеточных технологий в растениеводстве ПолесГУ разработаны технологические регламенты производства в промышленных объемах посадочного материала голубики высокой (*Vaccinium corymbosum*) и многих декоративных растений. Научные исследования по клональному микроразмножению растений проводятся в БГСХА. Здесь размножают такие сельскохозяйственные культуры, как картофель (*Solanum tuberosum*), виноград культурный (*Vitis vinifera*), землянику садовую (*Fragaria × ananassa* Duch.), а также декоративные и некоторые виды растений, занесенных в Красную Книгу Республики Беларусь: лилию кудреватую (*Lilium martagon* L.), блетиллу полосатую (*Bletilla striata*). В Институте леса НАН Беларуси специализируются на выращивании посадочного материала основных лесообразующих древесных пород и сохранении ценных генотипов [3].

Клональное микроразмножение — получение *in vitro* организмов вегетативным способом, генетически идентичных исходному. Обязательное условие клонального микроразмножения — использование объектов, полностью сохраняющих генетическую стабильность на всех этапах процесса (от экспланта до растений в поле).

Растительная клетка обладает уникальным свойством тотипотентности, благодаря которому она способна давать начало развитию целому организму, поэтому для получения клонов можно использовать любой растительный эксплант (клетку, ткань или орган). Последовательно вызывая его дедифференцировку, можно добиться регенерации целого растения. Однако проще и удобнее использовать для клонирования апикальные меристемы, так как они обладают генетической стабильностью и позволяют получать оздоровленные растения.

Для успешной работы с культурой *in vitro* необходимо соблюдать условия полной асептики. С этой целью используют только чистую стерильную посуду, стерильные питательные среды различного состава, разнообразие дезинфицирующие растворы. Все манипуляции с биологическим материалом совершают в условиях ламинар-бокса. Культивирование растений, полученных методом культуры тканей, должно производиться в культуральной комнате, где созданы оптимальные условия освещения, влажности и температурного режима.

Общая схема технологического процесса производства растений в культуре *in vitro* включает следующие этапы:

1) получение стерильной культуры. На данном этапе необходимо правильно выбрать растение-донор, получить свободную от инфекции стерильную культуру и добиться ее выживания;

2) собственно размножение. Этап основан на подборе состава искусственной питательной среды в целях увеличения коэффициента размножения культуры. Для этого в состав искусственной питательной среды включают цитокинины (6-БАП, БА и др.), гормоны, способствующие снятию апикального доминирования и активизации развития пазушных меристем. Мультипликацию пробирочных растений производят путем черенкования растений-регенерантов на побеги, которые затем переносят на свежую питательную среду. Длится этот процесс до тех пор, пока не будет получено достаточное количество растений;

3) укоренение и адаптация к нестерильным условиям. Укоренение полученных растений может осуществляться как в условиях *in vitro*, так и *ex vitro*. В первом случае образование корневой системы можно спровоцировать путем введения в искусственную питательную среду специфических фитогормонов ауксиновой природы (ИМК, ИУК, НУК и др.). Другой способ укоренения подразумевает формирование корней непосредственно в субстрате (торф, песок, перлит, минеральная вата, специализированные субстраты — ТРИ-ОНА, БИОНА и т. д.). Этап адаптации очень важен, так как растению предстоит приспособиться к новым условиям внешней среды — научиться существовать вне пробирки. Адаптация растений проводится в теплицах, в условиях повышенной влажности, что в свою очередь провоцирует развитие грибной инфекции на поверхности субстрата и может привести к гибели растений. В целях профилактики данного негативного фактора осуществляется обработка субстрата фунгицидами;

4) высадка в грунт. Для предотвращения механических повреждений корневой системы растение пересаживают в почву с закрытой корневой системой, заглубляя его так, чтобы над поверхностью почвы оставались только развитые листья [4].

Заключение. Клональное микроразмножение растений является весьма эффективным способом, благодаря которому существует возможность получать высококачественный, оздоровленный посадочный материал, востребованный в республике. Также его применение способствует быстрому размножению лесных пород и декоративных растений, сохранению и поддержанию видового разнообразия редких и исчезающих видов растений, занесенных в Красную книгу Республики Беларусь. Перспективы его использования и развития очевидны.

Список цитируемых источников

1. Горбунова, Ю. А. Основы генетической инженерии и биотехнологии : учеб. пособие для студентов высш. учеб. заведений по специальности «Зоотехния» / Ю. А. Горбунова. — Минск : ИВЦ Минфина, 2010. — 288 с.
2. Сельскохозяйственная биотехнология : учебник / В. С. Шевелуха [и др.] ; под ред. В. С. Шевелухи. — 3-е изд., перераб. и доп. — М. : Высш. шк., 2008. — 710 с.
3. Масштабы и перспективы клонального микроразмножения растений в мировом сельском хозяйстве [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <http://www.poznaniya.net>. — Дата доступа: 16.03.2017.
4. Основы биотехнологии : учеб. пособие для высш. пед. учеб. заведений / Т. А. Егорова [и др.]. — 4-е изд. — М. : Академия, 2008. — 208 с.