

- Plenum Press, 1985. – P. 179-193.
22. Merkle S.A. Somatic embryogenesis in ornamentals // Biotechnology of Ornamental Plants / Eds. R.L. Geneve, J.E. Preece, S.A. Merkle. – Wallingford: CAB International, 1997. – P. 13-33.
23. Mitrofanova I., Mitrofanova O. Special features of somatic embryogenesis and plant regeneration of *Clematis* *in vitro* // Propagation of Ornamental Plants - IPPS / Eds. Iv. Iliev, P. Zelev, I. Tzvetkov. – Sofia: SEEK & SHARE: Balkanpress. – 2000. – P. 70-75.
24. Mitrofanova I.V., Mitrofanova O.V. Development of recipient system of woody subtropical plants *in vitro* // Acta Universitatis Latveiensis. Biology. – 2004. – Vol. 676. – P. 189-196.
25. Gene-pool collection in Nikitsky Botanical Gardens – National Scientific Center / Mitrofanova I.V., Movchan O.P., Shishkin V.A., Mitrofanov V.I. // Bull. State Nikitsky Bot. Gardens. – 2002. – N 85. – P. 30-33.
26. Mitrofanova I.V., Yezhov V.N. Plant regeneration of *Clematis* L. through somatic embryogenesis *in vitro* // Bull. State Nikitsky Bot. Gardens. – 2002. – N 86. – P. 16-19.
27. Nomura K., Komamine A.I. Physiological and biochemical aspects of somatic embryogenesis // *In vitro* Embryogenesis in Plants. Current Plant Science and Biotechnology in Agriculture / Ed. T.A. Thorpe. – Vol. 20. – Dordrecht: Boston: London: Kluwer Academic Publishers, 1995. – P. 417-470.
28. Quoirin M., Lepoivre P. Etude de milieux adaptes aux cultures *in vitro* de *Prunus* // Acta Hort. – 1977. – N 78. – P. 437-442.
29. Reinert J. Morphogenese und ihre Kontrolle and Gewenbekulturen aus Carotten // Naturwissenschaften. – 1958. – Bd. 45. – S. 344-345.
30. Sharp W.R., Sondahl M.R., Caldas L.S., Marraffa S.B. The physiology of *in vitro* asexual embryogenesis // Hort. Rev. – 1980. – Vol. 2. – P. 268-310.
31. Steward F.C. Growth and development of cultivated cells. III. Interpretations of the growth from free cell to carrot plant // Amer. J. Bot. – 1958. – Vol. 45. – P. 709-713.
32. Thorpe T.A., Harry I.S. Application of tissue culture to horticulture // Acta Hort. – 1997. – N 447. – P. 39-49.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ БАНКИ РАСТЕНИЙ В БОТАНИЧЕСКИХ САДАХ РОССИИ

О.И. МОЛКАНОВА, кандидат сельскохозяйственных наук
 Учреждение Российской академии наук Главный ботанический сад
 им. Н.В. Цицина РАН, Москва, Россия

Введение

Основной задачей ботанических садов в сохранении биологического разнообразия является комплексное изучение и сохранение генетических ресурсов природной флоры путем пополнения и поддержания коллекций живых растений, а также разработка оптимальных режимов долговременного хранения семян и меристем, обеспечивающих их жизнеспособность и стабильность. Особый интерес представляет изучение возможностей сохранения в генетических банках видов, естественное возобновление которых в природе ослаблено или затруднено. Для таких видов от устойчивости воспроизведения *ex situ* зависит сохранность их генофонда в целом [1, 3].

Эффективность сохранения генофонда растений *ex situ* может быть резко повышена путем создания генетических банков. По классификации Международного центра генетических ресурсов различают следующие их виды: 1) генетические банки семян; 2) банки растительного материала, сохраняемого *in vitro* (культуры меристем,

тканей сеянцев в условиях замедленного роста); 3) полевые генные банки (специальные, обычно клоновые посадки плодовых и лесных пород, корневых и клубневых культур).

Большинство существующих генетических коллекций растений специализируется на коммерчески важных культурах, таких как кукуруза, пшеница, клевер, какао, авокадо и т. д. Большая часть образцов, собранных в генетических банках, представляет очень ограниченное число видов. По некоторых оценкам, лишь около 15% из них – дикорастущие родственники культурных растений [3, 5].

Целью настоящих исследований являлось создание репрезентативных генетических коллекций семян и меристем ценных и редких видов для сохранения биоразнообразия растений.

Объекты и методы исследования

В настоящей работе представлена информация о банках семян и меристем *in vitro* ботанических учреждений России, в которых сохраняются представители как культурных, так и дикорастущих видов.

Объектами создаваемых коллекций являются ценные и полезные виды растений, а также редкие и исчезающие виды 1-3 категории редкости. Исходным материалом для включения таксонов в генетический банк служили семена и вегетативные фрагменты органов растений. Материал получали как непосредственно из экспедиций и ботанических учреждений, так и по обмену семенами через делектусы.

Долговременное хранение семян дикорастущих видов растений проводится при трех, принятых в мировой практике режимах: +5°C; -20°C; -196°C [7].

Методика биотехнологических исследований основывалась на общепринятых классических приемах работы с культурами изолированных тканей и органов растений [2].

В качестве материала для выделения тотальной ДНК использовали апикальные части молодых побегов в фазе активного роста. Выделение ДНК из растительной ткани осуществляли по стандартной методике [6]. Для верификации коллекции *in vitro* использовали молекулярно-генетический анализ, основанный на анализе относительных генетических расстояний между проверяемыми образцами (микроклонами) и известными таксонами [6].

Результаты и обсуждение

При создании генетических банков были поставлены следующие задачи: 1) сбор, идентификация, описание и номенклатура образцов; 2) комплексное изучение материала с использованием анатомо-морфологических, биотехнологических, биохимических и молекулярно-генетических методов; 3) оптимизация условий длительного сохранения образцов в банках семян и меристем *in vitro* с целью дальнейшего устойчивого воспроизводства; 4) создание базы данных, включающей информацию по каждому конкретному образцу, с возможностью удаленного доступа посредством сети Internet.

В режиме глубокого замораживания (-196°C) постоянно хранятся семена более 150 дикорастущих видов (охраняемых, лекарственных, декоративных и др.). Установлено, что криоустойчивость видоспецифична, данный метод наиболее перспективный для сохранения жизнеспособности семян микробиотиков [7].

Наиболее представительные коллекции меристем *in vitro* находятся в Главном ботаническом саду им. Н.В. Цицина РАН (около 1000 таксонов) и ГУ «Волгоградский региональный ботанический сад» (более 250 наименований). Банки *in vitro* других ботанических учреждений РФ содержат не более 50 таксонов (Центральный сибирский ботанический сад, БИН им. В.Л. Комарова РАН и Ботанический сад-институт Уфимского научного центра РАН). Особенностью данных коллекций является то, что они взаимно дополняют друг друга.

Виды растений природной флоры должны быть представлены образцами из как можно большего числа популяций естественных мест произрастания. Это позволяет обеспечивать наиболее полную репрезентативность их генофонда. Так, например, в нашей коллекции *Belamcanda chinensis* (L.) DS представлена популяциями из 11 точек ареала, *Syringa josikaea* Jacq. – из 7.

Схема создания и структура банка меристем растений *in vitro* представлена на рис. 1.



Рис. 1. Схема создания и структура банка меристем растений *in vitro* ГБС РАН

Основные приемы сохранения генофонда *in vitro*, на наш взгляд, рационально применять только к тем таксонам растений, для которых разработаны легко воспроизводимые методы размножения [2, 4].

Сравнительное изучение биологических особенностей видов растений в коллекциях ботанических садов и в природных условиях послужило основой для разработки биотехнологических приемов их культивирования с целью дальнейшего воспроизведения.

Основной метод, используемый нами при размножении большинства таксонов *in vitro* – это активация уже существующих в растениях пазушных меристем. По мнению большинства исследователей, он считается наиболее надежным с точки зрения генетической стабильности размножаемых форм [2].

Известно, что существует комплекс факторов, каждый из которых в отдельности и в сочетании с другими оказывает значительное влияние на развитие клеточных и тканевых систем *in vitro*. Среди них наиболее важными являются тип экспланта, физиологическое состояние донорных растений, условия культивирования растений *in vitro*, состав питательных сред и др. При этом степень влияния каждого из названных факторов зависит от генотипа [8].

В настоящий момент в банке стерильных культур ГБС содержатся 304 вида и 659 культиваров из 42 семейств (табл.).

Значительное таксономическое разнообразие свидетельствует об универсальности использованной нами модели клonalного микроразмножения растений.

Для подтверждения генетической идентичности растений, размноженных в условиях *in vitro* (клонов), с исходными растениями нами используется молекулярно-генетическое маркирование.

В настоящее время актуальность содержания коллекций с использованием культуры изолированных тканей и органов не вызывает сомнений. В основу таких способов положена способность поддержания жизнеспособности растений или их отдельных органов [8]. Наиболее распространенным является хранение в условиях минимального роста. Этим способом хранятся практически все существующие коллекции растений *in vitro*.

Таблица

Таксономический состав банка *in vitro* ГБС РАН

Семейство	Число		Семейство	Число	
	видов	культиваров		видов	культиваров
Aceraceae	3	-	Geraniaceae	-	15
Actinidiaceae	5	25	Gesneriaceae	-	35
Agavaceae	3	20	Glossulariaceae	4	11
Alliaceae	3	-	Hydrangeaceae	2	-
Amaryllidaceae	7	-	Iridaceae	5	12
Araceae	12	15	Lamiaceae	2	5
Araliaceae	3	-	Liliaceae	12	62
Aristolochiaceae	2	-	Lobeliaceae	1	-
Asplodiaceae	5	16	Loganiaceae	-	4
Asteraceae	9	53	Magnoliaceae	1	-
Begoniaceae	-	15	Moraceae	12	15
Betulaceae	5	-	Oleaceae	20	75
Berberidaceae	6	-	Orchidaceae	43	15
Brassicaceae	5	-	Paeoniaceae	10	-
Caprifoliaceae	2	16	Papaveraceae	3	-
Caryophyllaceae	2	-	Poaceae	70	-
Celastraceae	1	-	Ranunculaceae	5	42
Davalliaceae	2	4	Rosaceae	17	157
Dioscoreaceae	2	-	Schizandraceae	1	1
Ericaceae	12	46	Solanaceae	1	-
Fabaceae	5	-	Thymelaeaceae	1	-

На ряде таксонов были разработаны способы хранения при замедленном росте с применением осмотиков и ретардантов. При разработке подходов и методов сохранения отдельных видов растений должен быть использован дифференцированный подход с учетом биологических особенностей растений в конкретных условиях. Так оптимальными условиями хранения для растений семейств Ericaceae, Rosaceae и Oleaceae оказались $\frac{1}{2}$ питательной среды MS с добавлением 40 г/л сахарозы + 8 г/л маннита, пониженная температура (2-4°C) и слабая освещенность. Это позволило успешно хранить материал данных таксонов без пересадок в течение 18 месяцев (рис. 2, 3), а для представителей семейства Liliaceae и Amaryllidaceae – до 24 месяцев без пересадок.

В последнее время особое внимание уделяется вопросам сохранения редких и исчезающих видов растений. Применение современных методов для сохранения таксонов в генетических банках семян и меристем дает возможность получить необходимый материал без разрушения природных популяций, что особенно актуально для данной категории растений. В настоящее время коллекция редких и исчезающих растений *in vitro* в ГБС РАН содержит более 70 видов, а в ГУ ВРБС – 33 вида.

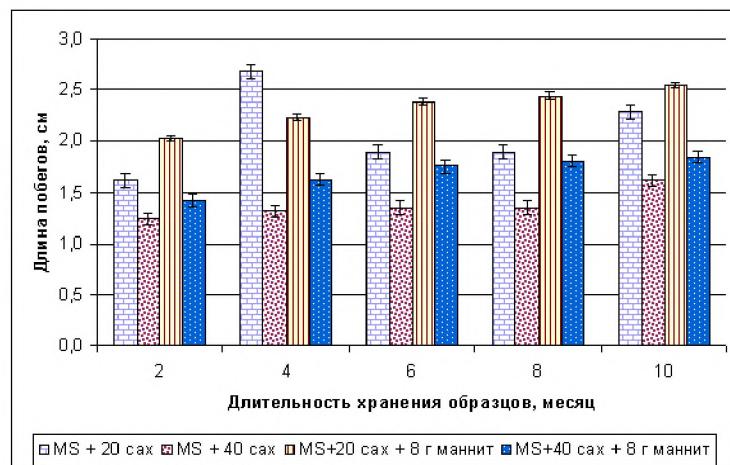


Рис. 2. Влияние состава питательной среды на длину побегов при длительном хранении сортов *Syringa vulgaris* L.

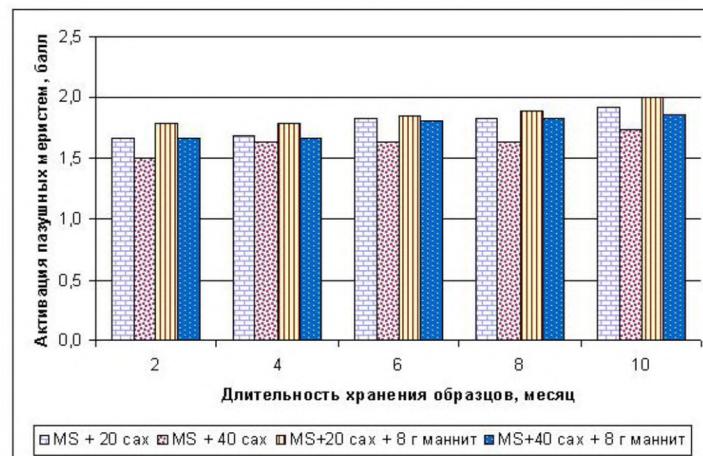


Рис. 3. Влияние состава питательной среды на активацию пазушных меристем при длительном хранении сортов *S. vulgaris* L.

За последнее время активность исследований, направленных на консервацию растительных ресурсов, возросла во всем мире. Создание банков семян и стерильных культур ценных и редких растений является одним из перспективных направлений сохранения биоразнообразия растений. Они служат страховым фондом и могут быть использованы для обмена между ботаническими учреждениями разных стран.

В дальнейшем на национальном и международном уровнях необходимо создание новых и укрепление существующих банков семян и меристем дикорастущих растений *in vitro*, а также расширение на их основе исследований в области оценки, изучения и сохранения растительных ресурсов.

Выводы

1. Отбор образцов и формирование *core* – коллекций в генетических банках следует проводить с использованием современных методов анализа генетического разнообразия.
2. При разработке приемов и методов сохранения отдельных таксонов растений должен быть использован дифференцированный подход с учетом биологических особенностей растений.
3. Особое внимание уделяется репрезентативности и поддержанию генетической чистоты таксонов, сохраняемых *in vitro*.

4. Наиболее перспективным являются сохранение асептических растений в режиме от 3 до 7°C, а семян – в режиме глубокого замораживания при –196°C.

Список литературы

1. Использование методов биотехнологии растений для сохранения и изучения биоразнообразия мировой флоры / Белокурова В.Б., Литвак Е.В., Майстров П.Д., Сикура Й.Й., Глеба Ю.Ю., Кучук Н.В. // Цитология и генетика. – 2005. – № 1. – С. 41-51.
2. Бутенко Р. Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнология на их основе. – М.: ФБК-ПРЕСС, 1999. – 160 с.
3. Разработка принципов сохранения и воспроизведения генетических фиторесурсов / Виноградова Ю.К., Горбунов Ю.Н., Макридин А.И., Молканова О.И., Швецов А.Н. // Фундаментальные основы управления биологическими ресурсами. – М.: Товарищество научных изданий КМК, 2005. – С. 343-350.
4. Высоцкий В.А. Биотехнологические методы в системе производства оздоровленного посадочного материала плодово-ягодных культур: Автореф. дисс. ... докт. биол. наук: 06.01.07. – Москва, 1998. – 44 с.
5. Сохранение растений в генетических банках *in vitro*: преимущества и недостатки / Мамаева Н.А., Ветчинкина Е.М., Горбунов Ю.Н., Молканова О.И. // Бюллетень ГБС. – 2008. – Вып. 194. – С. 141-149.
6. Использование молекулярно-генетических маркеров для верификации коллекций *in vitro* сирени обыкновенной (*Syringa vulgaris* L.) / Мельникова Н.В., Борхерт Е.В., Мартынов С.П., Окунева И.Б., Молканова О.И., Упелниек В.П., Кудрявцев А.М. // Генетика. – 2009. – Т. 45, № 1. – С. 97-103.
7. Тихонова В.Л. Долговременное хранение семян // Физиология растений. – 1999. – Т. 46, № 3. – С. 467-476.
8. Morel L. Meristem culture techniques for the long storage of cultivated plants // International biological program 2: Crop genetic resources for today and tomorrow. – New York: Cambridge Univ. Press. – 1975. – P. 327-333.

ФИТОПАТОЛОГИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ГЕНОФОНДА ДЕКОРАТИВНЫХ РАСТЕНИЙ В ЛИТВЕ

М. НАВАЛИНСКЕНЕ, габилитированный доктор биомедицинских наук;

М. САМУЙТЕНЕ, доктор биомедицинских наук;

Б. ГРИГАЛЮНАЙТЕ, доктор биомедицинских наук

Институт ботаники АН Литвы, Вильнюс, Литва

Р. ЮОДКАЙТЕ, доктор биомедицинских наук;

Г. ШТУКЕНЕНЕ, доктор биомедицинских наук

Ботанический сад Вильнюсского университета, Вильнюс, Литва

С. ДАПКУНЕНЕ, доктор биомедицинских наук

Генобанк растений и БСВУ, Вильнюс, Литва

Введение

В Литве, начиная с 1994 г., на государственном уровне была утверждена программа по исследованию генетических ресурсов культурных растений. В осуществлении данной программы приняли участие несколько исследовательских институтов и учреждений. С 1998 г. в рамках исследований были включены декоративные растения, и программа была переименована в «Генофонд». В ботаническом саду Вильнюсского университета (БСВУ) основной целью было сохранение уже существующих коллекций декоративных растений, а начиная с 1992 г. в коллекции включены сорта и гибриды, созданные