

## НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ВОСПРОИЗВОДСТВА РЕДКИХ И ДЕКОРАТИВНЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *BETULA L. IN VITRO* ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА

**КУЛАГИН Дмитрий Валерьевич**, научный сотрудник

**КОНСТАНТИНОВ Андрей Вячеславович**, младший научный сотрудник

*Институт леса Национальной академии наук Беларуси*

**КИРЬЯНОВ Павел Сергеевич**, магистрант

*Гомельский государственный университет имени Ф.Скорины*

**КАРУНОС Артур Сергеевич**, магистрант

*Полесский государственный университет*

Климатические изменения глобального характера и возрастание уровня антропогенной нагрузки на лесные экосистемы существенно влияют на состояние популяций и жизненность растений, вызывают нарушения структуры фитоценозов. Редкие и реликтовые виды, в особенности на границах ареалов распространения, являются особенно уязвимыми к изменению условий обитания. Среди представителей рода *Betula L.* в Республике Беларусь самостоятельные лесные формации формируют береза повислая (*Betula pendula* Roth.) и береза пушистая (*Betula pubescence* Ehrh.). В то же время вид Береза карликовая (*Betula nana* L.), а также чернокорая (*Betula pendula* var. *obscura* (Kotula ex Fiek) Olšovská.) и карельская (*Betula pendula* Roth var. *carelica* (Merclin) Hamet-Ahti.) формы березы повислой являются редкими и встречаются только на отдельных, строго ограниченных территориях [1, 2]. Помимо имеющихся в естественных условиях следует отметить форму березы повислой (*Betula pendula* Roth. var. *dalecarlica* Schneid.), так называемую далекарлийскую березу, отличающуюся перистораздельной формой листовой пластинки, перспективную для озеленения урбанизированных территорий.

Устойчивое управление лесами предполагает сохранение биологического и ландшафтного разнообразия при ведении лесохозяйственной деятельности. Одним из путей сохранения редких видов берез является создание генетических банков стерильных побеговых культур *in vitro*, обеспечивающее сокращение площадей под маточными коллекциями и дающими возможность массово производить посадочный материал ценных генотипов древесных растений для создания лесных культур и промышленных плантаций их рациональное хозяйственное использование, направленное на выращивание высококачественных саженцев для производства высокодекоративной узор-

чатой древесины, успешной реинтродукции видов в природную флору и зеленого строительства [3, 4].

Исследования направлены на формирование перевиваемой коллекции культур тканей редких и ценных представителей рода *Betula* L. для реализации возможности сохранения генофонда и его устойчивого воспроизводства в условиях *ex situ* с применением биотехнологических методов.

В качестве экспериментального материала были выбраны клоны березы карликовой, березы чернокорой и далекарлийской березы, поддерживаемые в коллекции лаборатории генетики и биотехнологии 9-12 лет. Клоны карельской формы березы повислой, использованные в исследованиях депонируются 2-4 года. Инициацию указанных культур проводили из материала, взятого с деревьев различных морфологических форм, отобранных сотрудниками лаборатории лесной селекции Института леса НАН Беларуси в ходе обследования естественных и искусственных насаждений.

В результате многолетних исследований определены стандартные условия поддержания коллекционного материала *in vitro*. Для выращивания применяется модифицированная культуральная среда без регуляторов роста на основе макросолей WPM (Lloyd & McCown 1980), микросолей и витаминов MS (Murashige & Skoog 1962), дополненная 7 г·л<sup>-1</sup> сахарозы в качестве источника углерода и 8 г·л<sup>-1</sup> микробиологического агара. Условия культивирования: температура 24±2°C и постоянное освещение интенсивностью 3,5–4,5 тыс. люкс. Для подсветки используются лампы со средними спектральными показателями дневного света и максимумом в синей части OSRAM L 36 W /765 Daylight, цветовая температура: 6500 К, световой поток: 2500 лм и фитолампами с максимумами в синей и красной частях спектра OSRAM L 36 W /77 FLUORA, цветовая температура: 7700 К, световой поток: 1400 лм, в равнозначном участии, обеспечивающем спектр света благоприятный для процессов роста и развития микрорастений березы различных видов.

Эффективным способом поддержания *in vitro* культур березы являются методы хранения растений в условиях их минимального роста. Нами была разработана схема культивирования, включающая черенкование растений на одно- или двухузловые экспланты длиной 0,8-1,5 см, их культивирование на модифицированной безгормональной среде WPM по 15-20 шт. в культуральных сосудах объемом 200 мл под крышками из пищевой фольги в стандартных условиях 15-20 дней и последующую герметизацию емкостей полиэтиленовой пленкой или лентой «Parafilm M» и помещением для культивирования в условиях пониженной освещенности (2,0–2,5 тыс. люкс).

Так для Березы карликовой и чернокорой формы березы повислой продолжительность пассажа увеличена с 3 до 8 месяцев, а для клонов карельской и далекарлийской березы с 2 до 6 месяцев, что позволяет хранить эти растения *in vitro* в состоянии замедленного роста. При этом показано, что вышеописанные приемы позволяют избежать массовой витрификации микропобегов на начальных этапах роста, а также гибель растений в результате токсического воздействия высоких концентраций минеральных солей связанного с подсыхания агаризованной среды. В случае беспересадочной культуры идет естественный процесс отмирания листовых пластинок и отдельных побегов, в связи с чем сохранность на микрорастении зеленых листьев является показателем их жизнеспособности при хранении *in vitro*.

Получение в зависимости от видовой/формовой принадлежности генотипа до 65-87% жизнеспособных эксплантов в ходе черенкования культуры после хранения дает возможность накопления материала, пригодного для последующего клонального микроразмножения к определенному сроку.

Эффективность приема получения растений-регенерантов на среде без регуляторов роста в культуре изолированных тканей можно оценить по показателям коэффициента мультипликации и интенсивности ризогенеза микроразмножения. Так выход эксплантов при мультипликации березы карликовой и чернокорой формы березы повислой после трех месяцев культивирования составляет 5-8 шт. эксплантов на 1 микрорастение. Данный показатель для клонов карельской и далекарлийской березы различных морфологических форм варьирует в пределах 4-6 шт. эксплантов на растение. Ризогенез микрорастений в существенной мере варьирует в зависимости от видовой принадлежности и генотипа растений. Максимальное укоренение (100% микрорастений) наблюдается для клонов высокоствольной (штамбовой формы) карельской формы березы повислой после 9-12 суток культивирования, число корней при этом составляет 3-8 шт. на 1 растение. Укоренения регенерантов карликовой березы удается достичь лишь после 20-32 суток выращивания, корни формируются тонкие, а их число редко превышает 2-5 шт. на 1 растение.

Акклиматизация микрорастений *ex vitro* успешно проводится на субстрате из верхового торфа, песка или перлита в соотношении компонентов 3:1 или 3:2 и на субстрате из перлита, насыщенно-

го раствором солей по прописи WPM. После 1,5-2,0 месяцев адаптации саженцы достигают размеров около 8,0-16,0 см и пригодны для перевода в условия закрытого грунта питомников.

В результате комплексных исследований морфоорганогенеза и структурно-функциональной адаптации регенерантов к почвенным условиям позволили создать банк генотипов, представленный коллекцией стерильных культур, включающей более 15 клонов и эффективно его использовать. Разработаны технологии клонального микроразмножения для различных видов и форм представителей рода *Betula* L., открывающие широкие возможности для сохранения генофонда и его устойчивого воспроизводства в условиях *ex situ*.

#### **Список использованных источников**

1. Мацкевич, Н.В. Охрана редких генотипов лесных деревьев и кустарников. М.: Агропромиздат, 1987. – 207 с.
2. Побирušко, В.Ф. Перспективы хозяйственного использования редких видов берез Беларуси в контексте сохранения их генетических ресурсов / В.Ф. Побирušко // Сборник научных трудов / Институт леса Национальной академии наук Беларуси. – Гомель, 2003. – Вып. 59: Селекция, генетические ресурсы и сохранение генофонда лесных древесных растений (Вавиловские чтения). – С. 153-156.
3. 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.
4. *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.