

Основные методы при
сохранении и размножении
редких и исчезающих видов:
генные банки,
криоконсервация,
микроклональное
размножение.

Курс «Инновационные технологии в лекарственном
растениеводстве»

Лекция 1

Сайты для просмотра

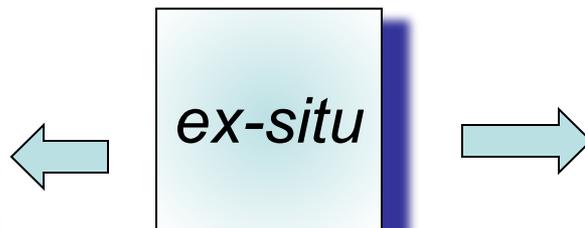
- Нагойский протокол

http://www.un.org/ru/documents/decl_conv/conventions/pdf/nagoya_protocol.pdf

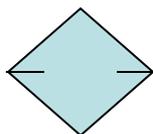
- Конвенция о биоразнообразии

<http://www.cawater-info.net/library/rus/bio.pdf>

Принципы сохранения



Возвращение
в природу



Определения

- *Сохранение in-situ* означает сохранение экосистем и естественных мест обитания, а также поддержание и восстановление жизнеспособных популяций видов в их естественной среде, а применительно к одомашненным или культивируемым видам — в той среде, в которой они приобрели свои отличительные признаки.

Стратегии *in-situ*

- **Стратегия невмешательства** или минимального воздействия реализуется в национальных парках и иных особо охраняемых природных территориях, где вмешательство человека в окружающую среду минимально.

-обеспечивает поддержание размера популяций и ее структуры, необходимых для защиты генетической целостности видов.
-недостаток такой стратегии заключается в отсутствии или неполноте информации о большинстве видов.

- **Умеренная стратегия управления** полагается на сохранение традиционных форм природопользования для поддержания среды обитания и сохранения хозяйственной деятельности, которые сформировали современное видовое разнообразие и внесли свой вклад в генетическое разнообразие по крайней мере для некоторых видов, наиболее тесно связанных с человеком.

-примером могут служить рыболовецкие артели, которые отстаивают именно такую модель устойчивого развития.

- **Промежуточная стратегия управления.** Если биологические ресурсы длительное время и в значительной степени использовались, то для сохранения видов и поддержания генетического разнообразия может потребоваться вмешательство человека.

-например, запрет на использование неводов и волокуш на Галичском и Чухломском озерах в России привел к зарастанию их водной растительностью и уменьшению числа ценных видов рыб.

- **Стратегия интенсивного управления** нацелена на одомашненные или полудикие виды. Поскольку разнообразие одомашненных или полудиких видов является главным образом результатом селекции и искусственного отбора, следует поддерживать структуру их популяции.

Примеры

- В горах Гаро в Индии созданы генные заповедники диких родственников цитрусовых, подобные же резерваты культурных растений имеются и в других частях Индии, а также в Китае и в Армении.
- В Индии существуют несколько заповедников орхидей,
- в Эфиопии имеются охраняемые территории, на которых произрастает дикий кофе;
- в Коронадском национальном лесном заповеднике в штате Аризона (США) организован специальный заповедник для сохранения дикого перца Чили.
- В Бразилии создано 7 генетических заповедников различных хозяйственно ценных видов и планируется создание еще ряда заповедников.

Применение инноваций

- Дроны для учёта ресурсов и распространения
- GPS для изучения передвижения животных
- ??? (Ваши предложения)

Принципы сохранения биоразнообразия

- *Сохранение ex-situ* означает сохранение компонентов биологического разнообразия вне их естественных мест обитания.

ex-situ

- Это стратегия, при которой ресурсы генофонда тех или иных видов содержатся в искусственных условиях (семена, пыльца, сперма, замороженные клетки, отдельные организмы в ботанических садах и зоопарках).
- Эти ресурсы **изымаются** из природной среды и в качестве компонентов биоразнообразия содержатся отдельно от своего исконного местообитания.

ex-situ

- Новым подходом является создание банка генов, которые могут быть двух типов:
- лабораторные генные банки (замороженные клетки и ткани);
- природные генные банки для сохранения угрожаемых видов (ботанические сады).

- По классификации Международного центра генетических ресурсов различают следующие виды генетических банков:
- 1) генные банки семян;
- 2) полевые генные банки (специальные, обычно клоновые посадки растений);
- 3) банки меристем - хранение растительного материала в условиях *in vitro* (культура изолированных меристем, тканей и органов растений в условиях замедленного роста) [1].

Всемирное семеновохранилище на Шпицбергене



- туннель-хранилище на острове Шпицберген, в который помещаются для безопасного хранения образцы семян основных сельскохозяйственных культур.

Всемирный банк-семеновохранилище посадочного материала



- создан в 2006 году под эгидой ООН для сохранения посадочного материала всех сельскохозяйственных растений, существующих в мире.
- Проект осуществлялся на средства Норвегии и стоил 9 млн долларов.
- Собственный отсек в этом банке растений получила каждая страна.
- Задача такого хранилища семян — не допустить их уничтожения в результате возможных глобальных катастроф, таких как падение астероида, ядерная война или глобальное потепление.
- Места внутри достаточно для 4,5 млн образцов семян.

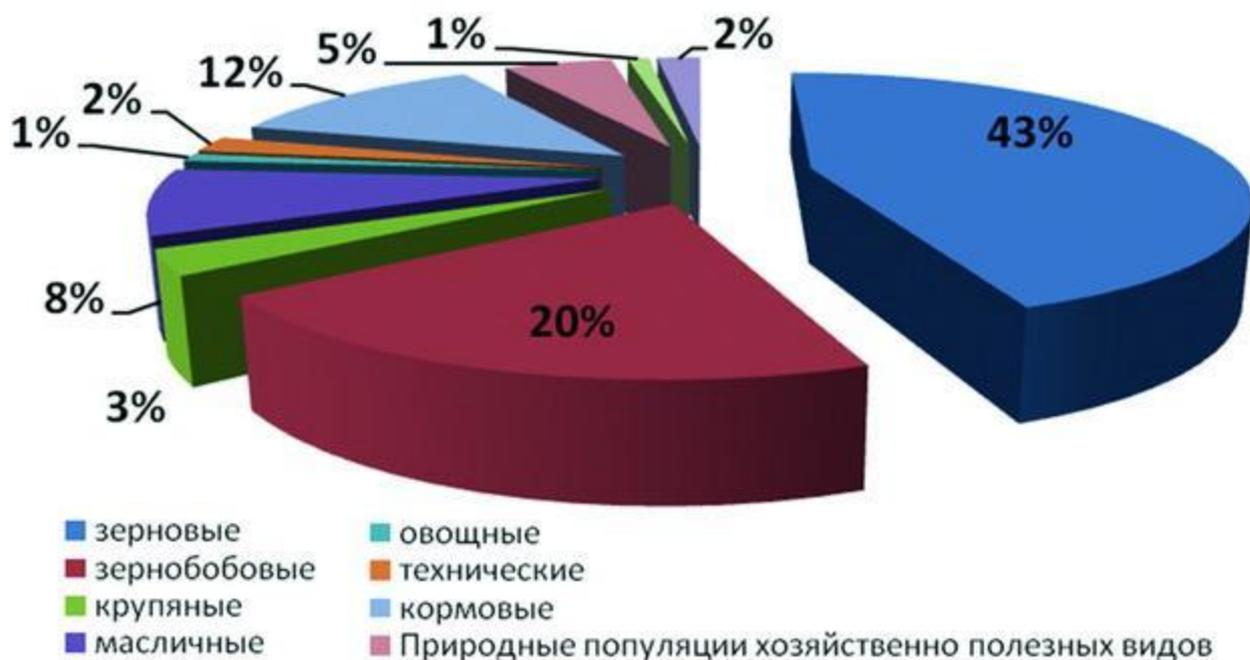
Криоконсервация

- Изучение возможности криоконсервации семян дикорастущих видов началось сравнительно недавно - в начале 80-х годов XX века, но уже очевидно, что это перспективный способ сохранения генетических ресурсов растительного мира (Stanwood, 1985; Тихонова, 1999).

Крупнейшие генные банки

- Норвегия
- Из 1700 ботанических садов
долговременное хранение в 200

Структура генного банка Белорусии



Проблемы генных банков

- Режимы хранения
- Верификация семян (установление видовой принадлежности)

Режимы хранения

- Три основных режима
- +5 °C
- -20 °C
- -196 °C

Срок хранения семян видоспецифично

- Сроки хранения семян ортодоксального типа в условиях лаборатории ограничиваются в среднем 3-4 годами (*Bergenia pacifica*, *Lilium buschianum* и др.), у отдельных видов всхожесть сохраняется до 7 лет (*Pinus densiflora*, *Filifolium sibiricum*).

Влияние температуры

Название вида	Комнатная температура	T=+2 о С
Валериана	1 год	≥ 4
Дягиль	1 год	≥ 4
Ромашка	4 года	≥ 8
Зверобой	2 года	≥ 5
Ослинник	2 года	≥ 8
Мелисса	2 года	≥ 4
Чистотел	1 года	≥ 4
Чабер горный	1 год	≥ 4

Гермитизация

- Герметизация и хранение при +5°C позволяют увеличить период жизнеспособности семян до 10,5-11 лет. Хранение в лабораторных условиях семян рекальцитрантного типа (*Adonis amurensis*, *Plagiorhegma dubia* и др.) в течение 2-5 месяцев после сбора приводит к полной потере всхожести. Такие семена во влажном состоянии можно хранить 7-8 месяцев при +5°C (*Quercus dentata*).

Криоконсервация

- При соблюдении рекомендуемых IPGRI условий (-18°C с 5–6 %-й влажностью) семена дикорастущих видов плодовых и ягодных культур можно хранить течение нескольких лет без снижения их жизнеспособности
- Криоконсервация семян исследованных растений с влажностью 5–6 % не влияет на их жизнеспособность, при этом режим замораживания и оттаивания значения не имеет.
- Поэтому при криоконсервации рекомендуется использовать самый простой способ – быстрое замораживание путем погружения пробирок с семенами в жидкий азот и оттаивание их при комнатной температуре.

Криоустойчивость видоспецифична

- Криоконсервация семян с равновесной влажностью (от 5,4 % до 10,4 %) 38 видов дикорастущих растений Приморского края в течение 24 часов, 30 дней и 3 лет не вызывает полной потери всхожести.
Криоустойчивость семян исследованных видов неоднозначна: у ряда видов независимо от скорости охлаждения лабораторная всхожесть размороженных семян либо повышается (например, *Celastrus flagellaris*, *Astragalus uluginosus*), либо снижается (например, *Filifolium sibiricum*), при этом может изменяться динамика прорастания. Выявлена группа видов (*Bergenia pacifica*, *Deutzia amurensis*, *Lespedeza tomentosa* и др.), у которых всхожесть семян и динамика прорастания остаются без изменений.

Влияние на стратификацию

- Замораживание в жидком азоте не оказывает влияния на период холодной стратификации семян изученных видов, характеризующихся физиологическим (например, *Ampelopsis japonica*) или комбинированным (например, *Cerasus sargentii*) типом покоя.

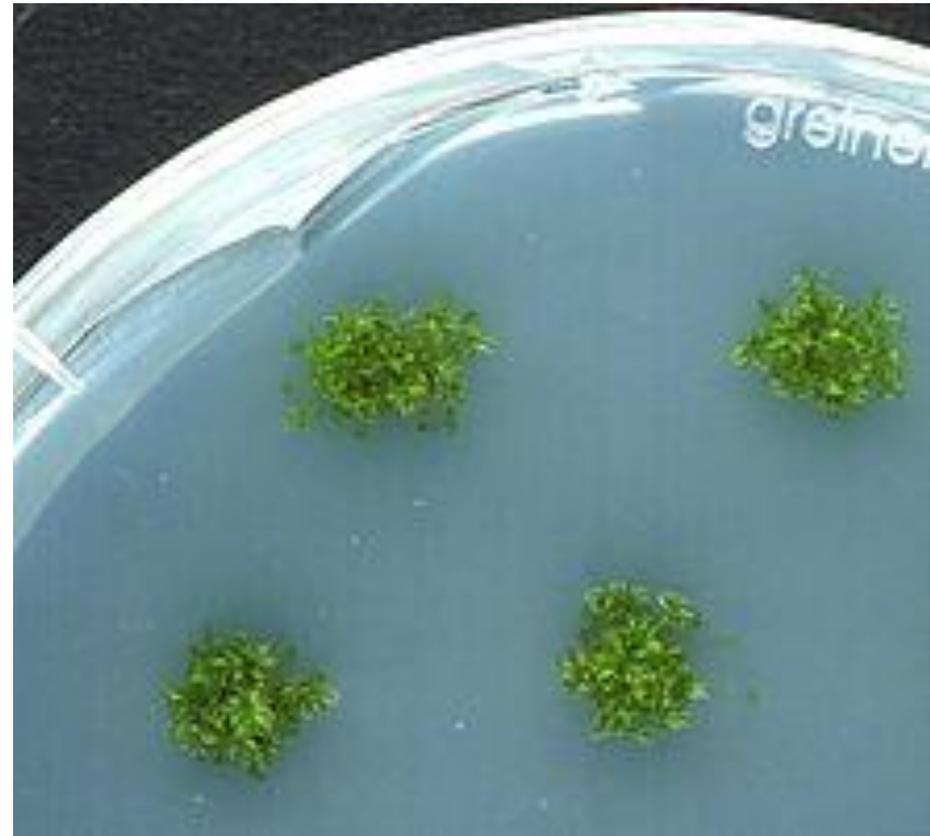
Значение режима заморозки

- В зависимости от вида и скорости охлаждения твердосемянность изученных представителей сем. Fabaceae после однократного замораживания снижается от 2 % до 100 %. Для семян некоторых видов бобовых испытанные скорости замораживания являются стрессовой ситуацией, в результате чего развивается от 1 % (*Astragalus membranaceus*) до 79 % (*Lespedeza cyrtobotrya*, *L. tomentosa*) аномальных проростков с повреждениями семядолей, зародышевого корешка и гипокотиля, причем медленное замораживание приводит как к снижению, так и к увеличению доли поврежденных проростков.

Последствия

- глубокое замораживание семян как правило не оказывает влияния на развитие всходов, рост растений, продолжительность прегенеративного периода, на изменчивость морфологических признаков ассимилирующих и репродуктивных органов генеративных особей, на репродуктивную способность выращенных растений и качество семян в первом поколении.

Микроклональное размножение

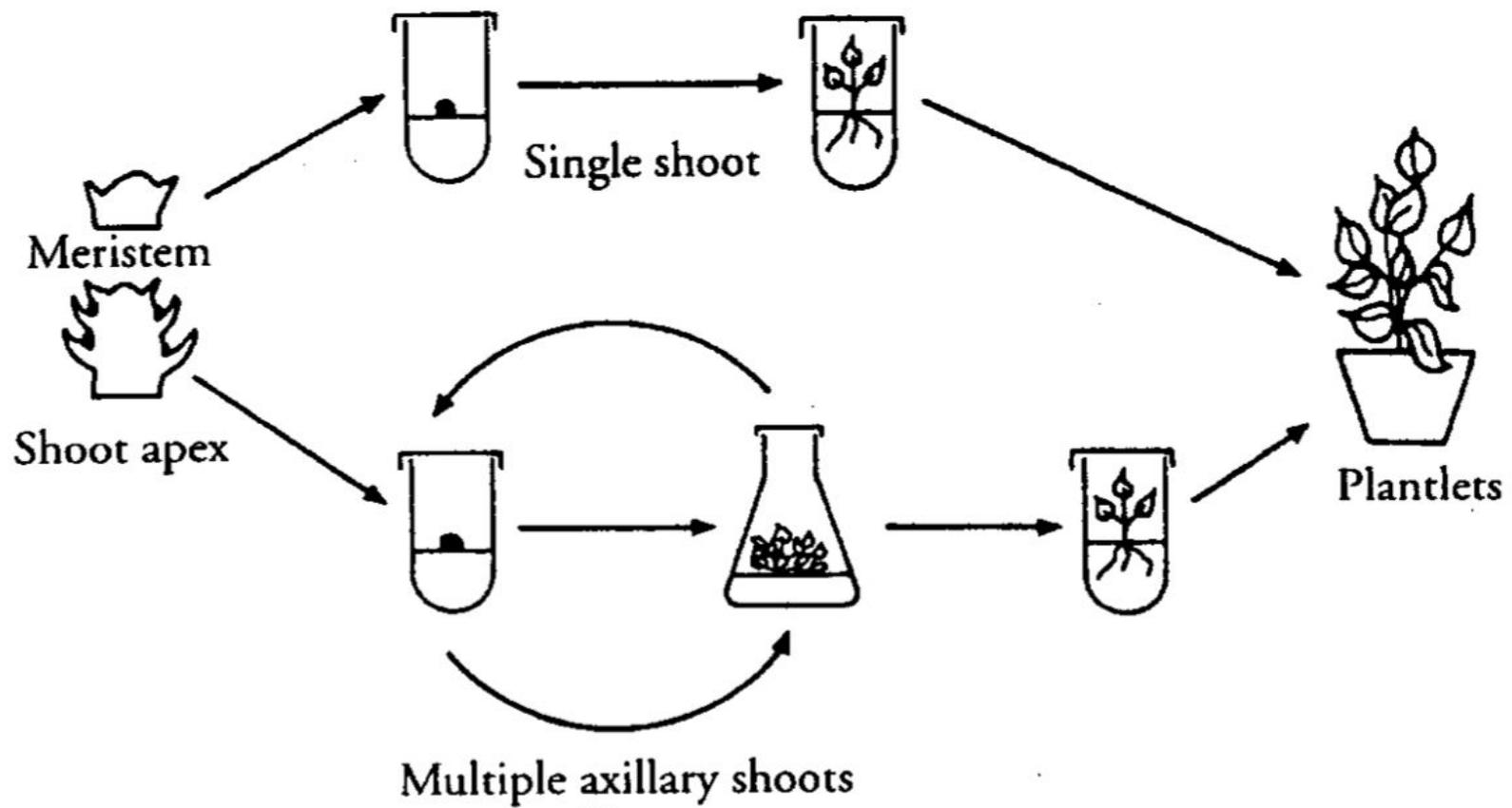


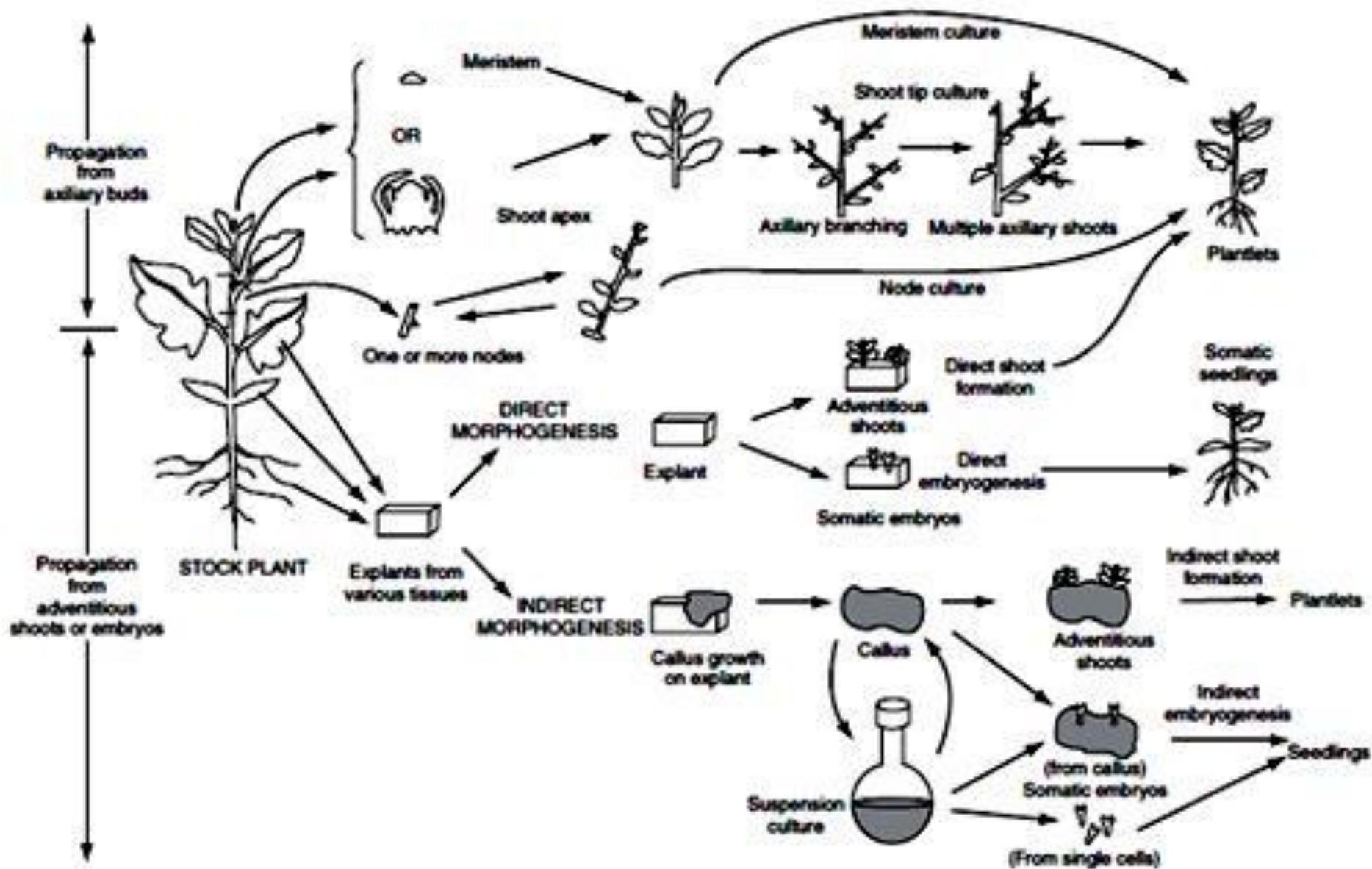
Показания к применению

- Невозможность или затрудненность размножать семенами;
- Ускоренное размножение, в том числе трудно размножаемых видов

Этапы микроклонального размножения

- выбор растения-донора, изолирование эксплантов и получение хорошо растущей стерильной культуры;
- собственно микроразмножение, когда достигается получение максимального количества мериклонов;
- укоренение размноженных побегов с последующей адаптацией их к почвенным условиям, а при необходимости депонирование растений-регенерантов при пониженной температуре (+ 2°, + 10 °С);
- выращивание растений в условиях теплицы и подготовка их к реализации или посадке в поле.





- **Основной метод**, используемый при клональном микроразмножении растений — это активация развития уже существующих в растении меристем основывающийся на снятии апикального доминирования. Это может быть достигнуто двумя путями:
 - а) удалением верхушечной меристемы стебля и последующим микрочеренкованием побега *in vitro* на безгормональной среде;
 - б) добавлением в питательную среду веществ цитокининового типа действия, индуцирующих развитие многочисленных пазушных побегов. Как правило, в качестве цитокининов используют 6-бензиламинопурин (БАП) или 6-фурфуриламинопурин (кинетин), а также 2-изопентениладенин и зеатин. Полученные таким образом побеги отделяют от первичного материнского экспланта и вновь культивируют на свежеприготовленной питательной среде, стимулирующей пролиферацию пазушных меристем и возникновение побегов более высоких порядков.

- **Второй метод** — это индукция возникновения адвентивных почек непосредственно тканями экспланта. Он основан на способности изолированных частей растения при благоприятных условиях питательной среды восстанавливать недостающие органы и, таким образом, регенерировать целые растения. Образования адвентивных почек можно добиться почти из любых органов и тканей растения (изолированного зародыша, листа, стебля, семядолей, чешуек и донца луковицы, сегментов корней и зачатков соцветий), если их удастся получить свободными от инфекции. Этот процесс, как правило, происходит на питательных средах, содержащих один цитокинин или в сочетании с ауксином, находящихся в соотношении 10:1 или 100:1 в качестве ауксина в этом случае наиболее часто используют бета-индолил-3-уксусную кислоту (ИУК) или альфа-нафтилуксусную кислоту (НУК). Это наиболее распространенный метод микроразмножения высших растений, которым были размножены многие луковичные цветочные растения (нарциссы, лилии, гиацинт, гладиолусы, тюльпаны) из луковичных чешуи, сегментов базальной части донца луковиц, эксплантов листьев; представители рода Brassica (капуста цветная, кочанная, брюссельская, листовая, брокколи — из сегментов гипокотиля, семядолей, листьев; лук, чеснок — из верхушечной меристемы, ткани донца луковиц; томаты — из апикальных или пазушных меристем; салат цикорный — из сегментов листовых пластинок; петуния — из сегментов корней; глоксиния, фиалки — из сегментов листовых пластинок, а также некоторые представители древесных растений — из изолированных зрелых и незрелых зародышей).