

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ  
Центральный ботанический сад  
Научно-практический центр по биоресурсам  
Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича  
Институт леса



## **Проблемы сохранения биологического разнообразия и использования биологических ресурсов**

Материалы III Международной конференции,  
посвященной 110-летию со дня рождения академика Н.В. Смольского  
(7–9 октября 2015 г., Минск, Беларусь)

**В двух частях  
Часть 1**

**Секция 1. Ресурсы и биоразнообразие растительного мира:  
современное состояние, воспроизводство, охрана  
и устойчивое использование**

**Секция 2. Современные направления изучения  
ботанических коллекций для сохранения  
и рационального использования  
биоразнообразия растительного мира**

Минск  
«Конфидо»  
2015

УДК 502.174:574.1(082)

ББК 20.18я43

П78

**Редакционная коллегия:**

*д.б.н., чл.-кор. НАН Беларуси В.В. Титок (ответственный редактор),*

*д.б.н. Е.И. Анисимова,*

*к.б.н. Б.Ю. Аношенко,*

*к.б.н. Д.Б. Беломесецева,*

*к.б.н. П.Н. Белый,*

*д.б.н. Е.И. Бычкова,*

*к.б.н. Т.В. Волкова,*

*к.б.н. Л.В. Гончарова,*

*д.б.н. С.А. Дмитриева,*

*к.б.н. Е.Я. Куликова,*

*к.б.н. А.В. Пугачевский,*

*д.б.н., чл.-кор. НАН Беларуси В.П. Семенченко,*

*к.б.н. В.А. Цинкевич*

Материалы печатаются в авторской редакции.

Иллюстрации предоставлены авторами публикаций.

П78 **Проблемы сохранения биологического разнообразия и использования биологических ресурсов:** материалы III Международной научно-практической конференции, посвященной 110-летию со дня рождения академика Н.В. Смольского. (7–9 октября 2015, Минск, Беларусь). В 2 ч. Ч. 1 / Нац. акад. наук Беларуси [и др.]; редкол.: В.В. Титок [и др.]. – Минск: Конфидо, 2015. – 514 с.

ISBN 978-985-6777-74-8.

В сборнике представлены материалы III Международной научно-практической конференции «Проблемы сохранения биологического разнообразия и использования биологических ресурсов», посвященной 110-летию со дня рождения академика Н.В. Смольского. Часть 1: секция 1 «Ресурсы и биоразнообразие растительного мира: современное состояние, воспроизводство, охрана и устойчивое использование» и секция 2 «Современные направления изучения ботанических коллекций для сохранения и рационального использования биоразнообразия растительного мира».

**УДК 502.174:574.1(082)**

**ББК 20.18я43**

**ISBN 978-985-6777-74-8**

© ГНУ «Центральный ботанический сад  
Национальной академии наук Беларуси», 2015  
© Оформление. ЗАО «Конфидо», 2015

## Особенности культивирования тканей рода сирень (*Syringa L.*) в культуре *in vitro*

Брель Н.Г., Фоменко Т.И., Спиридович Е.В.

Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Беларусь, E.Spiridovich@cbg.org.by

**Резюме.** Объектом исследований являлись сорта и гибриды рода сирень (*Syringa L.*). Поскольку получение саженцев высокодекоративной сирени методом черенкования затруднено, а в ряде случаев невозможно, были разработаны методы культивирования и клонального микроразмножения *in vitro*, позволяющие сохранить сортовые особенности и получить большое количество посадочного материала. Описан процесс оптимизации минерального состава питательных сред для сирени, а также показана сезонность начального этапа получения стерильной культуры.

**Summary.** Brel N.G., Fomenko T.I., Spiridovich T.I. **Peculiarities of lilac (*Syringa L.*) tissue cultivation *in vitro*.** The subjects of investigation are varieties and hybrids of lilac (*Syringa L.*). Since vegetative propagation of lilac is difficult or impossible in some cases, the methods of cultivation and micropropagation *in vitro* have been developed to obtain a large number of seedlings with varietal features. The optimization of mineral composition of nutrient media for lilac cultivars was described and the seasonality of the initial stages of getting of sterile culture was shown.

Объектами исследований являлись сорта и гибриды рода *Syringa L.*, находящиеся в коллекциях Центрального ботанического сада НАН Беларуси, Главного ботанического сада (г. Москва, РФ), Латвийского государственного института плодоводства (г. Добеле, Латвия) и Ботанического сада Вильнюсского университета (Литва). Созданная в ЦБС НАН Беларуси репрезентативная коллекция *in vitro* видов и сортов рода *Syringa L.* постоянно пополняется, что создает предпосылки для сохранения биологического разнообразия, применения принципиально новых подходов массового размножения для целей озеленения, разработки методов культивирования тканей и клеток растений сирени – продуцентов биологически активных веществ для фармацевтического использования. В настоящее время эта коллекция состоит из 55 сортов белорусской, российской, французской, латвийской, американской, голландской и украинской селекций.

Для сирени белорусской селекции коллекции ЦБС НАН Беларуси разработаны мультилокусные генетические паспорта, они позволили подтвердить данные о родословной, уточнить филогенетические связи между сортами: Лебедушка, Нестерка, Павлинка, Минчанка, Защитникам Бреста, Вера Хоружая, Памяти А.Т. Смольской, Успех, Константин Заслонов, Лунный Свет, Зорька Венера, Партизанка, Хорошее Настроение, Марат Казей, Свитязянка, Белорусские Зори, Полесская Легенда. Разработанный метод является эффективным и информативным при отборе образцов для клонального размножения, контроля сортовой чистоты при размножении сортов, формирования и проведения генетической верификации образцов коллекции *in vitro* [1].

Поскольку получение саженцев сортовой сирени методом черенкования затруднено, а в ряде случаев невозможно, разрабатывали методы культивирования и клонального микроразмножения *in vitro*. Исходный материал получен путем выгонки в комнатных условиях черенков сирени (рис. 1). Это позволило не проводить дополнительную предварительную обработку эксплантов фунгицидом, что положительно сказалось на развитии

пазушных почек, так как фунгициды обладают в определенной степени фитотоксичными свойствами и могут задерживать рост побегов.

Для индукции культуры в качестве эксплантов использовали апикальные и латеральные почки молодых побегов с небольшим участком стебля (рис. 2). Были подобраны условия стерилизации микрочеренков и введения в культуру *in vitro*. Культивирование проводили на среде Мурасиге-Скуга (MS), содержащей 30 г/л сахарозы, 8 г/л агара (Sigma, plant cell culture tested), 0,5 мг/л бензиламинопурина (БАП) при температуре 25 °С, освещенности 2000–2500 лк и фотопериоде 16 ч. Через шесть недель культивирования учитывали количество инфицированных и стерильных эксплантов.

Следует заметить, что в июне было предпринято еще одно введение в культуру *in vitro* сирени из Латвии и Литвы, где в качестве эксплантов использовали зеленые черенки от цветущих растений. Эта попытка оказалась безуспешной – наблюдали 100%-ное бактериальное и грибное заражение микрочеренков, а обработка 0,4%-ным раствором фунгицида Дитан-М не дала положительного результата, в то время как в первом случае обработка фунгицидом не требовалась. Таким образом, сделан вывод о целесообразности сезонного введения в культуру посредством микрочеренков, полученных в комнатных условиях.

При оптимизации условий микроклонального размножения исследовано влияние минерального состава среды на рост и развитие побегов *Syringa L.* в культуре *in vitro*. Культивирование побегов сирени на разных питательных средах показало, что для всех исследованных сортов сирени наиболее эффективное клонирование наблюдалось на среде MS [3, 7]. В результате экспериментов Pierik с сотрудниками пришли к выводу, что увеличение концентрации макроэлементов MS в 1,25–1,5 раза улучшает микроразмножение [5, 6]. Для размножения сирени использовали питательную среду MS, содержащую 1,5 дозы макроэлементов, одну дозу микроэлементов, витамины B<sub>1</sub>, B<sub>6</sub>, PP, глицин, мезоинозит, хелат железа, 3 % сахарозы, цитокинин 2иП, а в качестве желирующего компонента – agar plant cell culture tested (Sigma). На данной питательной среде побеги сирени имеют высокий коэффициент размножения (от 3 до 5–7 – в зависимости от генотипа), крупные интенсивно окрашенные листовые пластинки, а также длинные междоузлия, что облегчает и ускоряет процесс черенкования. Зависимость длины побега и коэффициента размножения от генотипа показана в табл. 1. Асептические культуры сирени выращивали при освещении 2500–3000 лк и фотопериоде 16 ч, при температуре 23–28 °С. Периодичность пассирования – полтора-два месяца.

Среда MS имеет богатую композицию минеральных солей, что способствует эффективному микроклонированию сирени [3], но и поддерживает развитие аномалий, связанное с гипероводненностью побегов. Одной из причин этого может быть избыток аммонийных ионов. Наряду с упомянутой средой была использована также модифицированная среда



Рис. 1. Побеги и черенки сирени сортов, подготовленных для введения в культуру

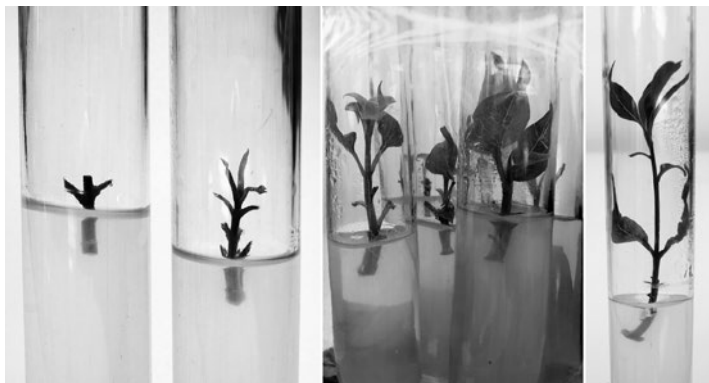


Рис. 2. Этап инициации культуры

Таблица 1. Длина побега и коэффициент размножения у разных сортов сирени на среде MS, содержащей 1,5 дозы макроэлементов

№ п/п	Сорт	Длина побега, мм	Коэффициент размножения
1	Абель Карьер	45,0±2,0	3,65±0,15
2	Лиэга	95,75±2,75	6,15±0,05
3	Андрюша Громов	80,25±12,25	5,2±0,1
4	Радж Капур	69,5±1,5	3,5±0,1
5	Людвиг Шпет	70,75±4,75	3,8±0
6	Жильбер	98,5±5,5	3,9±0,1
7	Мадам Казимир Перье	66,25±0,75	3,95±0,15
8	Мулатка	51,75±0,75	3,75±0,15
9	Дрезден Чайна	48,5±10,0	4,3±0,4
10	Сумерки	95,0±0	5,45±0,05
11	Минчанка	80,5±6,0	5,8±0,2
12	Шолохов	60,75±9,25	5,1±0,1
13	Лунный Свет	78,5±14,5	5,4±0,1
14	П.П. Кончаловский	87,0±4,5	4,15±0,25
15	Константин Заслонов	37,75±5,25	3,55±0,15
16	Антонина Мельник	66,5±0	3,85±0,05
17	Защитникам Бреста	120,0±0	5,35±0,15
18	Мечта	67,0±2,0	4,45±0,15
19	Хан Тенгри	77,0±1,0	5,2±0,3
20	Фэнтэзи	53,75±1,75	2,95±0,15
21	Виргиния Беккер	94,25±10,75	4,95±0,15
22	Олимпиада Колесникова	71,94±0,06	5,075±0,175
23	Романс	49,75±2,25	3,4±0
24	Примроуз	57,0±2,0	4,05±0,15
25	Валентина Гризодубова	88,5±0,5	5,6±0,3
26	Русь	83,57±3,57	4,235±0,335
27	Никитская	88,5±0,5	5,05±0,25
28	Ами Шотт	69,0±3,5	4,25±0,25
29	Сенсация	88,5±0,5	4,95±0,35

MS, в которой вместо макроэлементов по Murasige and Skoog применяли макроэлементы по Quoirin and Lepoivre (QL) [4], где отсутствуют ионы хлора, способные оказывать токсичное влияние на растения. Поскольку избыток аммонийных ионов может быть причиной обводненности побегов сирени, было принято решение изучить рост растений на среде, содержащей набор макроэлементов по прописи Quoirin and Lepoivre, где азот находится в нитратной форме, а количество катионов аммония сокращено в четыре раза по сравнению со средой Мурациге-Скуга (табл. 2).

Для размножения сирени использовали модифицированную питательную среду MS, содержащую макроэлементы по QL, одну дозу микроэлементов, витамины B<sub>1</sub>, B<sub>6</sub>, PP, глицин, мезоинозит, хелат железа, 3 % сахарозы, цитокинин 2иР в количестве 1 мг/л, а в качестве железирующего компонента – plant culture tested agar (производства Sigma). Асептические культуры сирени выращивали при освещении 2500–3000 лк и фотопериоде 16 ч, при температуре 23–28 °С. Периодичность пассирования – полтора-два месяца.

Таблица 2. Концентрация макроэлементов в средах MS и QL

Соль	Концентрация в среде, мг/л	
	MS	QL
CaCl <sub>2</sub>	332,2	–
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	–	833,9
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1650	400
KNO <sub>3</sub>	1900	1800
MgSO <sub>4</sub> ·r	370	360
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170	270

Для сравнения роста сирени на средах MS с различным составом и концентрацией макроэлементов (1,5 дозы макроэлементов по MS или макроэлементы по QL) были использованы три сорта: Бюффон, Изобилие и Русская Песня. Одно-, двухузловые черенки высаживали на поверхность плотной агаризованной среды в колбы и помещали на стеллажи при освещении 2500–3000 лк и фотопериоде 16 ч, при температуре 23–28 °С. Периодичность пассирования – полтора-два месяца. Длительность субкультивирования составила шесть-семь недель. В результате экспериментов учитывали коэффициент размножения (количество узлов на побег) и длину побега (мм) (табл. 3).

Таблица 3. Рост сирени сортов Бюффон, Изобилие и Русская Песня на среде MS с 1,5-ной концентрацией макроэлементов (1,5MS) и макроэлементами по QL

Сорт	Среда MS		Среда QL	
	Длина побега, мм	Коэффициент размножения	Длина побега, мм	Коэффициент размножения
Бюффон	6,8±1,7	3,9±2,1	12,5±2,4	5,3±1,7
Изобилие	6,3±2,5	3,2±1,8	3,6±1,7	2,5±1,0
Русская Песня	5,5±0,9	3,2±0,7	2,8±1,1	1,7±0,8

Наиболее значительные отличия в росте побегов на средах MS и QL отмечены у сорта Бюффон (рис. 3).

Таким образом, в результате проведенных исследований подобрана оптимальная питательная среда для успешного культивирования *in vitro* большинства сортов и гибридов рода сирень (*Syringa* L.) из коллекций разных ботанических садов, а также показана сезонность начального этапа получения стерильной культуры сирени.



Рис. 3. Рост побегов сирени сорта Бюффон на среде MS с 1,5-ной концентрацией макроэлементов (1,5MS) и среде QL

#### Список литературы

1. Спиридович, Е.В., Власова А.Б., Юхимук А.Н., Решетников В.Н. Оценка степени генетической дивергенции сортов рода сирень (*SYRINGA* L.) белорусской селекции на основе комплексного RAPD- и ISSR-маркирования // Сборник научных трудов ГНБС. – 2014. – Т. 139. – С. 200–207.
2. Молканова, О.И., Зинина Ю.М., Македонская Н.В., Брель Н.Г., Фоменко Т.И., Спиридович Е.В. Разработка биотехнологических приемов размножения сирени обыкновенной // Физиол. и биохим. культур. растений. – 2010. – Т. 42, № 2. – С. 117–124.
3. Murashige, T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture // *Physiol. plant.* – 1962. – Vol. 15. – P. 473–497.
4. Quoirin, M. and Lepoivre P. Improved media for *in vitro* culture of *Prunus* sp. // *Acta Horticulturae.* – 1977. – Vol. 78. – P. 437–442.

5. Pierik, R.L.M., Steegmans H.H.M., Sprengels P.A. Micropropagation of Lilac (*Syringa vulgaris* L.) // *Biotechnology in Agriculture and Forestry*. – 1992. – Vol. 20. – P. 407–426.
6. Pierik, R.L.M., Steegmans H.H.M., Elias A.A., Stiekema O.T.J., A.J. van der Velde. Vegetative propagation of *Syringa vulgaris* L. *in vitro* // *Acta Horticulturae*. – 1988. – Vol. 226. – P. 195–204.
7. Skrzypczak, E. Mikrorozmnażanie wybranych odmian lilaków // *Arboretum Kornickie*. – 1992. – Vol. 37. – P. 21–41.