

ЛЯХ Е.М.

Центральный сибирский ботанический сад СО РАН,
Россия, 630090, Новосибирск, ул.Золотодолинская, 101,
e-mail: syringa_l@rambler.ru

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ КЛОНАЛЬНОГО МИКРОРАЗМНОЖЕНИЯ СОРТОВ СИРЕНИ ОБЫКНОВЕННОЙ

Озеленение приобретает все большее значение в формировании современного облика городов и индустриального ландшафта. В связи с этим повышаются эстетические требования к подбору ассортимента растений и их размещению на озеленяемых объектах. Важное место здесь принадлежит сирени, одному из самых любимых и распространенных кустарников. Сирень обыкновенная (*Syringa vulgaris* L.) является очень популярным декоративным кустарником, часто используемым в озеленении городов Сибири, многие сорта которой хорошо растут и цветут.

В Центральном сибирском ботаническом саду Сибирского отделения Российской Академии наук, в лаборатории дендрологии с 1986 года автором были начаты работы с зелеными (полуодревесневшими) черенками сортовой сирени для создания коллекции с последующим отбором наиболее перспективных сортов для резко-континентального климата лесостепной зоны Западной Сибири и введения их в озеленение сибирских городов. За весь период работы с сортовыми сиренями автором было испытано 116 сортов зарубежной и отечественной селекции. В настоящее время коллекция сиреней ЦСБС насчитывает 33 сорта, выделенных как наиболее устойчивых к условиям лесостепной зоны Западной Сибири [1]. Сорта сирени традиционно размножали черенкованием. Однако существуют трудности в размножении наиболее интересных сортов *Syringa vulgaris*, не все сорта успешно размножаются вегетативными способами. Для размножения и сохранения таких сортов требуется разработать специальные условия — это размножение в условиях *in vitro*. Массовое размножение ряда сортов *in vitro* является более успешным и менее затратным, чем размножение растений традиционными методами.

Материалы и методы

Работа проводилась в лаборатории культуры тканей Ботанического сада Лонгвуда (Longwood Gardens, Pennsylvania, USA) под руководством доктора Джима Харбаджа (Dr. Jim Harbage, Research and Production Division Leader, Longwood Gardens). Исходный материал для исследований получали из десятилетних растений разных сортов сирени обыкновенной, растущих в экспозиции открытого грунта Лонгвуда. Для выяснения влияния генотипа исходного растения на коэффициент размножения в культуре *in vitro* было исследовано четыре модельных сорта: “Мадам Лемуан” (‘Madam Lemoine’), “Людвиг Шпет” (‘Ludwig Spaeth’), “Монж” (‘Monge’), “Капитан Бальтэ” (‘Captain Baltet’).

В основу методики были положены общепринятые, классические приемы работы с культурами изолированных тканей и органов растений [2]. В экспериментальной работе использовались различные ткани и органы (апексы, боковые почки, верхушечная меристема). По литературным данным оптимальное время размножения сирени — период цветения: с мая по начало июня в зависимости от погодных условий [3]. Из зеленых годичных побегов выделялись небольшие части побега (1–1,5 см) с двумя боковыми почками и апексы. Затем экспланты помещались для стерилизации в 20%-й раствор “Chlorax” на 20 минут и промывались в большом количестве дистиллированной стерильной воды. Стерильные экспланты помещали в пробирки на питательную среду, содержащую минеральные соли по МС [4] с витаминами: никотиновая кислота — 1 мг/л, пиридоксин HCl — 1 мг/л, тиамин HCl — 1 мг/л, сахароза — 30 г, агар — 7 г, с ИУК и БАП в различных концентрациях.

Результаты и обсуждение

Из работ многих авторов известно, что на процессы успешного побегообразования сиреней влияет большое количество условий [5, 6]. Важное значение имеют такие факторы как тип экспланта, оптимальные сроки взятия экспланта, генотип растения, использование различных комбинаций фитогормонов в питательных средах.

Первым шагом работы был выбор типа эксплантов и времени начала микроразмножения. В июне мы подготовили апексы и пазушные почки четырех сортов сирени обыкновенной и поместили на питательную среду. Данные эксперимента анализировались через 5, 7 и 9 дней. Результат первого эксперимента был неудовлетворительный. Несмотря на обработку хлорсодержащим раствором, наблюдалось массовое заражение эксплантов грибами и бактериями. Доля незагрязненных эксплантов через 5 дней эксперимента составляла 27,5% (сорт “Людвиг Шпет”), 10% (“Мадам Лемуан”), 12,5% (“Монж”), 7,5% (“Капитан Бальтэ”). Через 7 дней оставалось 20% только сорта “Людвиг Шпет”, а через 9 дней — 5%.

Через 3 недели мы повторили эксперимент в июле. Но, учитывая результаты предыдущего эксперимента, мы изменили тип экспланта на культуру меристем, что означает асептическое выращивание на питательной среде изолированного из апекса или пазушной почки побега конуса нарастания с одним или двумя листовыми примордиями [2].

В задачу этого эксперимента входило изучение возможности использовать меристему для размножения сортов сирени. Как и в первом эксперименте апексы и пазушные почки также были обработаны в 15% растворе “Chlorax” 15 минут. Используя световой микроскоп, мы подготовили из стерилизованного материала экспланты меристемы размером 0,5–1,0 мм. В результате доля развившихся побегов была — 97–99% и не было отмечено ни одного образца всех четырех сортов зараженного грибами или бактериями. Через 3 недели мы наблюдали в пробирках что регенеранты представляют собой укороченные побеги 3–5 мм с сформировавшимися листьям либо

выраженные побеги 5–7 мм из двух-трех междоузлий. Размеры и количество листьев варьировало в зависимости от сорта. Большое число регенерантов с более сформированным побегом (5–7 мм) и более крупными листьями (13–15 мм и до 33 мм) было у сорта “Людвиг Шпет”. Остальные сорта “Капитан Бальтэ”, “Мадам Лемуан”, “Монж” показывали такие результаты: как только укороченные побеги 2–3 мм, листья 6–12 мм, до 22 мм.

В октябре мы также повторили эксперимент с использованием меристемы на тех же 4-х сортах “Людвиг Шпет”, “Мадам Лемуан”, “Монж”, “Капитан Бальтэ”. Так же как и в июле, доля развившихся регенерантов была очень высокая — 97–99%, и они были также не заражены. Через 3 недели наблюдались хорошо развитые регенеранты с листьями и побегами.

Выводы

Проведенные исследования показали возможность успешного размножения четырех сортов сирени обыкновенной *in vitro*. Высокие результаты были получены при размножении с использованием меристемы в качестве первичного экспланта. Выбор в качестве первичных эксплантов апексов и пазушных почек показал менее успешные результаты размножения по четырем выбранным сортам. Сортвые особенности оказывают существенное влияние как на регенерационную способность, так и на коэффициент размножения. Наилучшие возможности побегообразования *in vitro* показал сорт “Людвиг Шпет”. Важным преимуществом выбора меристемы в качестве эксплантов было то, что работа проводилась с растениями, которые росли в условиях открытого грунта, а не как в большинстве работ, где работа велась с растениями из теплиц. Такие возможности увеличивают календарные сроки успешного размножения на весь вегенационный период, что является очень важным условием клонального микроразмножения сортов сирени обыкновенной для получения посадочного материала.

Литература

1. Бакулин В.Т., Банаев Е.В., Встовская Т.Н., Киселева Т.Н., Коропачинский И.Ю., Лаптева Н.П., Лоскутов Р.И., Лях Е.М., Потемкин О.Н., Чиндяева Л.Н. Древесные растения для озеленения Новосибирска.— Новосибирск.— 2008.— С. 263–267.
2. Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе: Учеб. Пособие.— М.— 1999.— 160 с.
3. Tomson S., Galeniece A., Akere A., Priede G., Zira L. *In vitro* propagation of *Syringa vulgaris* L. cultivars.— Biologija.— 2007.— Vol. 53.— N2.— P. 28–31.
4. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plantarum*.— 1962.— 15: 473–497.
5. Hildebrandt V., Harney P. *In vitro* propagation *Syringa vulgaris* “Vesper”. *HortScience*.— 1983.— 18(4): 432–434.
6. Einset J., Alexander III J. Multiplication of *Syringa* species and cultivars in tissue culture. *Proc. Inter. Plant Prop. Soc.*— 1984.— 34: 628–636.

Резюме

Приводятся данные об особенностях размножения сортов сирени в условиях *in vitro*. Выбор верхушечной меристемы в качестве экспланта дает хорошие резуль-

таты, увеличивает регенерационную способность и коэффициент размножения и позволяет получить чистый материал. При этом увеличивается время микроразмножения в течение всего вегетационного периода.

In article there are the data about features of reproduction of lilac cultivars in conditions *in vitro*. The choice of meristem gives good results for increases factor of reproduction and allows to receive a pure material. Time of micropropagation increases during all vegetative period thus.

МАТВЕЕВА Н.А., КВАСКО Е.Ю.

Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАН Украины, Украина, 03680, Киев, ул. Заболотного 148, e-mail: joyna56@gmail.com

ВЛИЯНИЕ СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ НА СОДЕРЖАНИЕ ИНУЛИНА В КОРНЯХ ЦИКОРИЯ *CICHORIUM INTYBUS L.*

Инулин ($C_6H_{10}O_5$)_n представляет собой запасной полисахарид, молекула которого состоит из 22–60 молекул фруктозы, соединенных между собой β-1,2-глюкозидными связями, и терминальной молекулы глюкозы [1]. Инулин найден во многих растениях, в том числе, цикории [2], экстракты которого обладают противораковыми свойствами [3], являются гепатопротекторным, противодиабетическим, притивозвненным, противовоспалительным средством [4–6]. Инулин может выполнять функцию сорбента, связывая и выводя из организма токсичные вещества [7], а также является пребиотиком, т.е. способствует росту полезной кишечной микрофлоры, в частности, лакто- и бифидобактерий [8]. Инулин может быть использован для получения фруктозы, спирта, а также как технологический ингредиент в пищевой промышленности.

Инулин накапливается в корнях цикория, причем количество его может составлять 15–20% и более сырого веса [9]. Показано, что в культуре *in vitro* также происходит синтез инулина. Так, для сорта цикория Lucknow Local определено, что при выращивании *in vitro* концентрация инулина в корнях может вдвое превышать концентрацию при росте *in vivo* [10]. Поскольку известно, что *in vitro* рост корневой системы цикория регулируется составом питательной среды и наличием/концентрацией регуляторов роста [11], представляет интерес изучение влияния состава среды на синтез запасного полисахарида инулина в растениях цикория.

Материалы и методы

В качестве исходного материала использовали семена цикория *C. intybus* сорта Пала росса, которые последовательно стерилизовали в течение 1 мин в 70%-ном этаноле, 10 мин в 25%-ном растворе коммерческого препарата “Белизна”, трижды по 10 мин промывали дистиллированной водой и прорастивали на агаризованной безгормональной среде Мурасиге и Скуга (MS) [12] в темноте при температуре 26 °С.