

**ПОПОЛНЕНИЕ КОЛЛЕКЦИИ АСЕПТИЧЕСКИХ КУЛЬТУР ЦБС НАН БЕЛАРУСИ СОРТАМИ СИРЕНИ
СЕЛЕКЦИИ ПЕТЕРИСА УПИТИСА**

Брель Н.Г., Фоменко Т.И.

Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Беларусь, tilia004@gmail.com

Резюме. Коллекция асептических культур ЦБС НАН Беларуси была пополнена сортами латвийского оригинатора Петериса Упитиса в 2014-2015 гг. Были разработаны условия получения *in vitro* культуры сирени и клонального микроразмножения.

**THE CULTIVARS BY PETERIS UPITIS ADDED TO THE IN VITRO COLLECTION
OF SYRINLA L. OF CBG NAS OF BELARUS**

Brel N.G., Fomenko T.I.

Central Botanical Garden of NAS of Belarus, Minsk, Belarus, tilia004@gmail.com

Summary. In 2014-2015 y. the cultivars of the Latvian originator Peteris Upitis have been added to the collection of aseptic cultures CBG NASB. The method of obtaining *in vitro* culture and micropropagation have been developed.

Наряду с традиционными методами сохранения растений *ex situ*, все большее значение приобретает использование для коллекции сирени культуры изолированных тканей и органов. Таким образом, к 2014 г. коллекция асептических культур сирени насчитывала более 50 генотипов белорусских, российских, европейских и американских оригинаторов из ЦБС НАН Беларуси, а также Главного ботанического сада РАН, Москва.

В создании национального генофонда коллекции сирени ЦБС НАН Беларуси вложен труд нескольких поколений ботаников-интродукторов: Н.В. Смольского, В.Ф. Бибиковой, Э.А. Буровой, Г.И. Матусевича, Н.В. Македонской. С 1961 по 2011 г. интродуцировано более 300 сортов сирени. Все они оценены по декоративности, продуктивности и пригодности для различных технологий выращивания. На основе данных по интродукции рода *Syringa* L. были отобраны высокодекоративные и устойчивые виды и сорта для проведения комплексных исследований с использованием анатомо-морфологических, биотехнологических и молекулярно-генетических методов.

При этом в коллекции не было ни одного сорта латвийской селекции, в то время, как в Латвийском Научно-исследовательском Институте земледелия была проведена активная работа по созданию новых сортов декоративных кустарников и травянистых многолетников. Кандидат сельскохозяйственных наук, создатель и руководитель Добельского питомника, Петерис Упитис (годы жизни 1896-1976) вывел более 80000 генотипов плодовых деревьев, ирисов, лилий, является автором 200 сортов сирени, 12 из которых зарегистрированы в Королевской ассоциации сирени. В 2014 и 2015 г. нам были переданы черенки более 30 сортов сирени Петериса Упитиса из Латвийского Государственного Института Плодоводства, в котором находится наиболее полная коллекция сортов оригинатора.

Для получения зеленых черенков, являющихся исходным материалом для эксплантов на первом этапе получения асептической культуры, мы поставили срезанные ветки в емкости с водой. Оптимальным периодом для инициации культуры является конец зимы – начало весны, то есть период естественного пробуждения почек. Почки срезанных в феврале-марте веток сирени, помещенных в воду и находящихся в комнате с температурой +20-25°C, начинают активно распускаться в течение 5 дней. В тот момент, когда зеленые побеги достигали длины 3 и более см, мы срезали их и разделяли на микрочеренки с одним узлом, состоящим из латеральных или верхушечных почек, используя при этом только вегетативные побеги.

Следует заметить, что из 34 сортов выгонка побегов произошла только у половины, что, вероятно, продемонстрировало сортовые особенности сирени, касающиеся начала пробуждения почек. Таким образом, для получения асептической культуры разных сортов сирени желательно иметь возможность получения исходного материала для эксплантов в разные отрезки времени в весенне-зимний период, то есть иметь источник такого материала круглый год, для чего необходимо заложить маточник.

Согласно авторам [1,2,3], для индукции культуры в качестве эксплантов использовали апикальные и латеральные почки молодых побегов с небольшим участком стебля. Поскольку исходный материал был получен путем выгонки в черенков сирени комнатных условиях и не был поверхностно загрязнен в той же степени, как материал, взятый непосредственно из сада, это позволило не проводить дополнительную предварительную обработку эксплантов фунгицидом, что впоследствии положительно сказалось на развитии пазушных почек, так как фунгициды обладают в определенной степени фитотоксичными свойствами и могут задерживать рост побегов.

Были подобраны условия стерилизации микрочеренков и введения в культуру *in vitro*. В качестве стерилизующего агента мы использовали гипохлорит кальция, или бытовую хлорку, растворенную в дистиллированной воде в концентрации от 7 до 9 г/л, с добавлением нескольких капель TWIN20 для лучшей смачиваемости поверхности. В ламинаре в асептических условиях предварительно отмытые с хозяйственным мылом микрочеренки помещали в стерильные баночки с хлоркой на 10-15 минут. Затем переносили чистые экспланты в баночки с проавтоклавированной дистиллированной водой, в которую была добавлена аскорбиновая кислота с целью предотвращения сильного окисления срезов микрочеренков. Процедуру отмывки эксплантов повторяли трижды, после чего экспланты сажали в пробирки с питательной средой Мурасиге-Скуга (MS), содержащей 0,5-1 мг/л БАП. [4].

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°C, освещенности 2000-2500 лк и фотопериоде 16 часов. В течение первых двух недель латеральные и апикальные почки активизировались и образовали побеги.

Через 4 недели культивирования учитывали количество инфицированных и стерильных эксплантов. Описанный выше способ подготовки эксплантов к первому этапу получения стерильной культуры позволил значительно уменьшить процент бактериальной и грибной контаминации и в конечном итоге пополнить *in vitro* коллекцию сирени новыми сортами. Следует заметить, что в июне была предпринято еще одно введение в культуру сирени, где в качестве эксплантов были использованы зеленые черенки от цветущих растений. Эта попытка оказалась безуспешной, мы наблюдали 100% бактериальное и грибное заражение микрочеренков, а обработка 0,4% раствором фунгицида Дитан-М не дала положительного результата, в то время, как в первом случае обработка фунгицидом не требовалась. Таким образом, мы пришли к выводу о целесообразности сезонного введения в культуру сирени посредством микрочеренков, полученных в комнатных условиях.

У эксплантов сирени в культуре *in vitro* происходит реализация органогенного потенциала пазушных почек, а также активизация деятельности клеток пазушной меристемы. Растения-регенеранты развиваются посредством прямого органогенеза, минуя стадию каллусообразования [5]. В ходе оптимизации питательной среды для культивирования сирени Pierik с сотрудниками пришли к выводу, что увеличение концентрации макросолей MS в 1,25-1,5 раза улучшает микроразмножение [6], что согласуется с мнением О.И. Молкановой и др. [7].

Культивирование побегов сирени на разных питательных средах показало, что для всех исследованных сортов наиболее эффективное клонирование наблюдалось на среде MS. Для размножения сирени мы использовали питательную среду MS, содержащую 1,5 дозы макроэлементов, 1 дозу микроэлементов, витамины В₁, В₆, РР, глицин, мезоинозит, хелат железа, 3% сахарозы, цитокинин 2иП, а в качестве желирующего компонента agar plant cell culture tested (Sigma).

Поскольку избыток аммонийных ионов может быть причиной обводненности побегов сирени, было принято решение изучить рост растений на среде Куорена – Лепуавра (Quoirin and Lepoivre, QL) [8], где азот находится в нитратной форме, а количество катионов аммония сокращено в четыре раза по сравнению со средой Мурасиге и Скуга (таблица 1).

Таблица 1. Концентрация макроэлементов в среде MS и QL

Соль	Концентрация в среде MS, мг/л	Концентрация в среде QL, мг/л
CaCl ₂	332,2	-
Ca(NO ₃) ₂	-	833,9
NH ₄ NO ₃	1650	400
KNO ₃	1900	1800
MgSO ₄ x 7 H ₂ O	370	360
KH ₂ PO ₄	170	270

Таким образом, наряду со средой MS была использована также модифицированная среда MS, в которой вместо макроэлементов по Murasige and Skoog применяли макроэлементы по Quoirin and Lepoivre (QL), где отсутствуют ионы хлора, которые могут оказывать токсичное влияние на растения, но при этом заметно увеличено содержание кальция изменено соотношение ионов кальция и азота.

Для размножения сирени использовали модифицированную питательную среду MS, содержащую макроэлементы по Куорену-Лепуавру (QL), 1 дозу микроэлементов, витамины В₁, В₆, РР, глицин, мезоинозит, хелат железа, 3% сахарозы, цитокинин 2иП в количестве 1 мг/л, а в качестве желирующего компонента plant culture tested agar (производства Sigma). Культивирование проводили при температуре 25°C, освещенности 2000-2500 лк и фотопериоде 16 часов. Пересаживали *in vitro* культуры сирени с периодичностью 6-8 недель.

В настоящее время в *in vitro* коллекции ЦБС находится 55 сортов сирени, из которых 13 введенные в 2014 и 2015 гг. сорта латвийской селекции Esobas Prieks, Kristone Baltpurvita, Jaunkalsnavas Nakts, Vita, Dobeles Saptotbis, Zilaris Kalns, Mazais Princas, Pvrsteigums, Tzvzeme, Dobeles Meitene, Zemgaliete, Imants Ziedonis, Liega. Показаны сортовые особенности развития сирени при введении новых сортов и культивировании *in vitro*.

Все перечисленные сорта размножены и включены в состав коллекции асептических культур ЦБС НАН Беларуси.

При разработке биотехнологических подходов размножения сирени проведено формирование и создание активной репрезентативной коллекции, что создает предпосылки как для широкого спектра как научных исследований, так и для сохранения и расширения биологического разнообразия *ex situ*.

Список литературы:

1. Pierik, R.L.M. Commercial aspects of micropropagation. Netherlands: Kluwer Academic Publishers. 1991. P. 347.
2. Waldenmaier S. and Bunemann G. Ex vitro effects in micropropagation of Syringa L. Culture. Acta Horticulturae. 1991. P. 300.
3. Hildebrandt V. and Harney P.M. In Vitro Propagation of Syringa vulgaris "Vesper". Hort Science. 1983. Vol. 18, № 4. P. 432-434.
4. Murashige, T., Skoog, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. plant. 1962. Vol. 15. Pp. 473-497.
5. 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.
6. 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. Pp. 407-426.
7. Молканова О.И., Чурикова О.А., Коновалова Л.Н., Окунева И.Б. Клональное микроразмножение интродуцированных сортов Syringa vulgaris L. Вести МГУ. - 2002. - Сер. 16. - № 4. - С. 8-14.
8. Quoirin M., Lepoivre P., Boxus Ph. Un premier bilan de 10 annees de recherche sur les cultures de meristemes et la multiplication in vitro de fruitiers ligneux. In: Compte Rendu des Recherches. Station des cultures fruitières et maraichères. 1977. Pp 93-117.