

УДК 635.92:581.522.4

DOI: 10.31040/2222-8349-2024-0-4-44-48

**СОХРАНЕНИЕ БИОРАЗНООБРАЗИЯ РОДА SYRINGA L.
В КОЛЛЕКЦИИ *IN VITRO* ГБС РАН**

© О.И. Молканова, Е.В. Мишанова, О.В. Королева, И.Л. Крахмалева, Н.Д. Орлова

Syringa L. – род древесных растений, культивируемых в регионах умеренного климата в основном для декоративного весеннего цветения. В России и за рубежом ведется селекционная работа по нескольким направлениям (получение высокодекоративных оригинальных сортов, зимостойкость, устойчивость к болезням и др.). Сохранение генетического разнообразия растительных ресурсов, в том числе декоративных культур, для существующих и будущих селекционных программ является основной задачей ботанических садов и других научно-исследовательских центров. Биотехнологический метод считают одним из наиболее эффективных и вместе с тем воспроизводимых способов сохранения генофонда растений. В Главном ботаническом саду им. Н.В. Цицина РАН сформирована коллекция *in vitro* рода *Syringa*, насчитывающая более 200 наименований (видов, подвидов, сортов и отборных форм). В процессе исследований усовершенствованы методы культивирования *in vitro* данной культуры. Выявлены особенности морфогенеза и проанализированы морфометрические показатели при культивировании сортов сирени с разными регуляторами роста на этапе собственно микроразмножения. Анализ используемых для микроразмножения сирени регуляторов роста (6-бензиламинопурина, мета-Тополина, тидиазурона) показал, что наибольшие значения существенных для микроразмножения показателей (высота микропобегов, коэффициент размножения и др.) были получены при культивировании на питательных средах с добавлением мета-Тополина. Установлена эффективность использования питательной среды Murashige-Skoog с добавлением мета-Тополина в концентрации 0.5 мг/л и 1.0 мг/л для культивирования большинства исследуемых сортов. Применение мета-Тополина в составе питательной среды способствовало образованию адвентивных побегов в базальной части эксплантов и пробуждению у них пазушных почек. Усовершенствована методика сохранения представителей рода *Syringa* в условиях замедления ростовых процессов. Установлено, что одновременное понижение освещенности (0.7 Клк) и температуры (5–7°C) и добавление в состав питательной среды ретарданта хлорхолинхлорида (4 мг/л) значительно увеличивало период субкультивирования (до 2 лет и более) и способствовало сохранению жизнеспособности эксплантов (в среднем 81%).

Ключевые слова: *Syringa*, клональное микроразмножение, морфогенез, коллекция *in vitro*.

Введение. Сохранение биоразнообразия растений *ex situ* является самым распространенным методом благодаря активной деятельности ботанических садов [1]. Создание генетических банков *in vitro* в дополнение к другим коллекциям *ex situ* эффективно для стабильного сохранения генетических ресурсов растений [2].

В настоящее время число биотехнологических коллекций постоянно увеличивается.

Культивирование *in vitro* широко применяется для сохранения генетического разнообразия редких и исчезающих видов растений, ценных сельскохозяйственных, а также декоративных культур [3, 4].

Род *Syringa* L. (сем. Oleaceae Hoffmanns. & Link) включает 12–36 видов (WFO Plant List; [5]) из двух регионов происхождения: горных районов Юго-Восточной Азии и Балкано-

МОЛКАНОВА Ольга Ивановна – к.с.-х.н., Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН,
e-mail: molkanova@mail.ru

МИШАНОВА Екатерина Викторовна – к.б.н., Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН,
e-mail: mishanova@gbsad.ru

КОРОЛЕВА Ольга Васильевна – Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН,
e-mail: elaem@yandex.ru

КРАХМАЛЕВА Ирина Леонидовна – Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН,
e-mail: seglory@bk.ru

ОРЛОВА Наталия Дмитриевна – Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН,
e-mail: irosvet96@mail.ru

Карпатского региона (Юго-Восточная Европа). Генетическое разнообразие сирени по архитектонике куста, срокам цветения, цветовой гамме окраски цветков, форме и строению соцветий позволяет практически повсеместно применять данную культуру в декоративном садоводстве. Кроме этого, представителей рода *Syringa* используют в народной и традиционной медицине, фармакологии, а также в кулинарии и косметологии [6].

К настоящему времени в международном реестре (International Register & Checklist of Cultivar Names for the Genus *Syringa* L.) зарегистрировано около 3000 сортов сирени, большинство из которых относят к виду *S. vulgaris* L. Многие сорта и отборные формы представлены в единичных экземплярах в коллекциях ботанических учреждений, экспозициях селекционных центров, частных и общественных садах коллекционеров. В связи с этим биотехнологические методы являются основой для устойчивого воспроизводства и сохранения *ex situ* данной культуры.

Сирень обладает высоким генетическим разнообразием и проявляет видоспецифичную и сортоспецифичную реакцию относительно условий культивирования, что обуславливает необходимость усовершенствования методики *in vitro* культивирования для данной культуры.

Цель исследования – оптимизация методов клонального микроразмножения и длительного сохранения представителей рода *Syringa*.

Материалы и методы. Объектами исследования были виды и сорта сирени из *in vitro* коллекции ГБС РАН. Применяли общепринятые [7] и разработанные в лаборатории биотехнологии растений ГБС РАН [8] приемы работы с культурами изолированных тканей и органов растений.

На этапе собственно микроразмножения использовали питательную среду Murashige-Skoog (MS, 1962), дополненную 30 г/л сахарозы и регуляторами роста 6-бензиламинопурином (БАП), мета-Тополином (МТ) и тидиазуроном (ТДЗ) в концентрациях 0.5 и 1.0 мг/л. Условия культивирования: температура 23±2°C, освещенность 2 Клк и 16-ч фотопериод (световая комната). Через 45 дней учитывали высоту и число микропобегов, вычисляли коэффициент размножения.

Для сохранения коллекции *Syringa in vitro* использовали питательные среды ½ MS с до-

бавлением 40 г/л сахарозы и ретарданта – хлорхолинхлорида (CCC) в концентрациях 2 и 4 мг/л. Для сохранения эксплантов сирени использовали разные условия: стандартные – световая комната (23–25°C, освещенность 2 Клк) и климатическая камера (5–7°C, освещенность 0.7 Клк).

Эксперименты проведены в трех повторностях по 10 эксплантов в каждой. Математическую и статистическую обработку данных проводили стандартными методами с использованием программ Microsoft Office 2019, PAST v.4.11. и SPSS Statistics 23. Достоверные различия между вариантами опыта устанавливали с помощью множественного рангового критерия Дункана при $P \leq 0.05$. Данные в таблицах приведены в виде средних арифметических со стандартной ошибкой ($M \pm SE$).

Результаты и обсуждение. В ГБС РАН сформирована наиболее представительная в России коллекция *in vitro* рода *Syringa*, насчитывающая около 250 наименований, которая постоянно пополняется известными, малораспространенными сортами сирени, а также отборными формами собственной селекции.

Основной целью при формировании коллекции было наиболее репрезентативное представление достижений отечественной селекции – сохранение сортов сирени селекции Л.А. Колесникова, Н.Л. Михайлова, Н.К. Вехова и др. Селекция ГБС РАН (авторы: Молканова О.И., Упелниек В.П., Королева О.В., Крахмалева И.Л.) представлена 7 сортами и 15 перспективными отборными формами.

Коллекционный фонд сирени ГБС РАН включает разнообразные по окраске, форме и строению цветка сорта, а также гибриды всех цветковых групп. Важная составляющая коллекции *in vitro* – сорта с оригинальными морфологическими признаками: например, окаймление по краю лепестков ('Sensation', 'Lila Wonder'), пестролистность ('Aucubafolia'), многолепестность ('Rochester', 'Pat Pesata', 'Porcelain Blue', 'Акварель', '75 лет ГБС') и другие.

В лаборатории биотехнологии растений ГБС для размножения представителей рода *Syringa* используют оптимальную модель, предусматривающую регенерацию растений посредством прямого органогенеза (минуя стадию каллусообразования), которая минимизирует риск появления соматоклональных вариаций [7, 9].

Биотехнологические методы открывают широкие возможности для сохранения и вос-

производства генофонда растений. Современные исследования влияния компонентов питательной среды, регуляторов роста и условий культивирования на развитие растений-регенерантов позволяют максимально эффективно оптимизировать методы клонального микроразмножения под конкретные задачи.

У представителей рода *Syringa* способность к реализации морфогенетического потенциала в большей степени определяется генетически и варьирует в определенных пределах под воздействием других факторов. Вследствие этого, для избежания статистических ошибок при проведении исследования, а также для наиболее эффективного сохранения коллекции *in vitro* сорта сирени были условно разделены на 3 группы по величине коэффициента размножения: с низким (до 3.0), средним (3.0–7.0) и с высоким (больше 7.0). Большая часть сортов (67%) отнесена к группе со средним коэффициентом размножения [10]. Большинство экспериментов проводят на сортах со средним коэффициентом размножения с контрольными сортами с низким и/или высоким коэффициентом размножения.

Эффективность клонального микроразмножения в значительной степени определяется составом питательной среды: изменение содержания в ней отдельных компонентов в большинстве случаев оказывает значительное влияние на морфогенетический потенциал растений [8, 9, 11]. Для регуляции ростовых процессов при культивировании *in vitro* в основном используют цитокинины, выбор которых определяется эффективностью в индукции ростовых процессов, влиянием на побегообразование и другие процессы.

Традиционно для *in vitro* культивирования сирени используют БАП. Однако при сравне-

нии действия различных регуляторов роста (БАП, мТ, ТДЗ) в составе питательной среды выявлено, что культивирование на среде с добавлением мТ способствовало индукции адвентивного побегообразования (таблица) и активизации пазушных почек: у эксплантов с мТ – 79.8%, с БАП – 27.6% и ТДЗ – 33.2%. Таким образом, применение мТ увеличивало коэффициент размножения сортов сирени (в среднем на 60% в зависимости от сорта).

Высокая скорость роста микропобегов и высокие показатели коэффициента размножения являются основной целью микроразмножения, однако для увеличения продолжительности субкультивирования и длительного сохранения в условиях *in vitro* необходимо замедлить ростовые процессы эксплантов без потери жизнеспособности.

Для крупных генетических банков *in vitro* актуальным является применение культивирования регенерантов в условиях замедленного роста. Процессом сохранения растений можно управлять с помощью физических условий культивирования (температуры, интенсивности освещения и т.д.), минерального состава питательной среды, использования осмотиков и ингибиторов роста, учитывая как морфометрические характеристики сохраняемых эксплантов, так и их функциональное состояние [12].

Установлена эффективность применения ССС для сохранения эксплантов сирени до 24–36 месяцев (при 5–7°C): при культивировании в данных условиях наблюдали уменьшение длины междоузлий и размера листовой пластинки. При сохранении в стандартных условиях на аналогичных средах происходило подавление роста побегов, но в меньшей степени. При 23–25°C после 6 месяцев депонирования жизнеспособ-

Т а б л и ц а

Влияние типа и концентрации цитокинина на показатели микроразмножения сортов *Syringa vulgaris* (на примере модельного сорта 'Sensation')

Регулятор роста	Высота микропобега, мм	Число побегов на экспланте, шт.	Коэффициент размножения
0.5 мг/л БАП (контроль)	26.4±1.5 с	1.1±0.1 b	9.2±0.6 d
1.0 мг/л БАП	33.0±1.6 с	1.2±0.1 b	8.1±0.3 d
0.5 мг/л мТ	63.8±3.0 а	2.3±0.2 а	30.7±1.3 а
1.0 мг/л мТ	50.0±4.7 b	2.1±0.1 а	23.3±2.4 b
0.5 мг/л ТДЗ	32.6±2.3 с	1.1±0.1 b	9.7±0.2 d
1.0 мг/л ТДЗ	53.2±6.8 b	2.0±0.3 а	14.2±2.2 с

способность эксплантов снизилась на 20%, а к 15 месяцам большинство эксплантов были практически нежизнеспособны. При 5–7°C снижение жизнеспособности у эксплантов наблюдали после 12 месяцев депонирования, однако относительно высокая жизнеспособность сохранялась до 24 месяцев и более. Показано, что добавление 4 мг/л ССС в состав питательной среды увеличило продолжительность субкультивирования до 36 месяцев (жизнеспособность эксплантов в среднем составила 81%). Следовательно, применение ретарданта ССС (4 мг/л) позволит снизить затраты на поддержание коллекции *in vitro* представителей рода *Syringa*.

Работа выполнена в рамках Государственного задания ГБС РАН № 122042700002-6.

Литература

1. Андреев Л.Н., Горбунов Ю.Н. Роль ботанических садов России в сохранении биологического разнообразия растений // Биологическое разнообразие. Интродукция растений: Матер. 3-й Междунар. науч. конф. СПб. 2003. С. 5–7.
2. Новикова Т.И. Использование биотехнологических подходов для сохранения биоразнообразия растений // Растительный мир Азиатской России. 2013. № 2(12). С. 119–128
3. Benelli C., Tarraf W., Izgu T., De Carlo A. In Vitro Conservation through Slow Growth Storage Technique of Fruit Species: An Overview of the Last 10 Years // Plants. 2022. Vol. 11. 3188. <https://doi.org/10.3390/plants1123188>
4. Da Silva, D.P.C., Ozudogru E.A., Dos Reis M.V., Lambardi M. In vitro conservation of ornamental plants // Ornament. Hortic. (Campinas). 2018. Vol. 24(1). P. 28–33. <https://doi.org/10.14295/oh.v24i1.1163>
5. Лунева З.С., Михайлов Н.Л., Судакова Е.А. Сирень. М.: Агропромиздат. 1989. 256 с.
6. Zhu W., Wang Z., Sun Y., Yang B., Wang Q., Kuang H. Traditional uses, phytochemistry and pharmacology of genus *Syringa*: A comprehensive review // Journal of Ethnopharmacology. 2021. Vol. 266. 113465. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113465>
7. Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнология на их основе. М.: ФБК-ПРЕСС. 1999. 160 с.
8. Молканова О.И., Коновалова Л.Н., Стахеева Т.С. Особенности размножения и сохранения коллекции ценных и редких видов растений в условиях *in vitro* // Бюллетень Государственного Никитского ботанического сада. 2016. Вып. 120. С. 17–23.
9. Bairu M.W., Aremu A.O., Van Staden J. Somaclonal variation in plants: causes and detection methods // Plant Growth Regulation. 2011. Vol. 63. P. 147–173. <https://doi.org/10.1007/s10725-010-9554-x>
10. Koroleva O.V., Molkanova O.I., Mishanova E.V. Biotechnological methods of reproduction and preservation of species and cultivars of the genus *Syringa* L. // Acta Horticulturae. 2022. Vol. 1339. P. 87–92. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2022.1339.12>
11. Ахметова А.Ш., Мухаметвафина А.А., Зарипова А.А. Культура *in vitro* представителей рода *Clematis* L. // Известия Уфимского научного центра РАН. 2017. № 3. С. 52–57.
12. Основы создания генобанка *in vitro* видов, сортов и форм декоративных, ароматических и плодовых культур. Симферополь: Издательство Типография «Ариал», 2018. 260 с.

References

1. Andreev L.N., Gorbunov Ju.N. Rol' botanicheskikh sadov Rossii v sohranении biologicheskogo raznoobrazija rastenij // Biologicheskoe raznoobrazie. Introdukciya rastenij: Mater. 3-j Mezhdunar. nauch. konf., Saint Petersburg, 2003, pp. 5-7.
2. Novikova T.I. Ispolzovanie biotehnologicheskikh podhodov dlja sohraneniya bioraznoobrazija rastenij // Rastitel'nyj mir Aziatskoj Rossii, 2013, no. 2(12), pp. 119-128
3. Benelli C., Tarraf W., Izgu T., De Carlo A. In Vitro Conservation through Slow Growth Storage Technique of Fruit Species: An Overview of the Last 10 Years // Plants, 2022, vol. 11, 3188, <https://doi.org/10.3390/plants1123188>
4. Da Silva, D.P.C., Ozudogru E.A., Dos Reis M.V., Lambardi M. In vitro conservation of ornamental plants // Ornament. Hortic. (Campinas), 2018, vol. 24(1), pp. 28-33. <https://doi.org/10.14295/oh.v24i1.1163>
5. Luneva Z.S., Mihajlov N.L., Sudakova E.A. Siren'. Moscow: Agropromizdat, 1989, 256 p.
6. Zhu W., Wang Z., Sun Y., Yang B., Wang Q., Kuang H. Traditional uses, phytochemistry and pharmacology of genus *Syringa*: A comprehensive review // Journal of Ethnopharmacology, 2021, vol. 266, 113465, <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113465>
7. Butenko R.G. Biologija kletok vysshih rastenij *in vitro* i biotehnologija na ih osnove. Moscow: FBK-PRESS, 1999, 160 p.
8. Molkanova O.I., Konovalova L.N., Staheeva T.S. Osobennosti razmnozhenija i sohraneniya kollekcii cennyh i redkih vidov rastenij v uslovijah *in vitro* // Bjulleten' Gosudarstvennogo Nikitskogo botanicheskogo sada, 2016, vol. 120, pp. 17-23.
9. Bairu M.W., Aremu A.O., Van Staden J. Somaclonal variation in plants: causes and detection methods // Plant Growth Regulation, 2011, vol. 63, pp. 147-173. <https://doi.org/10.1007/s10725-010-9554-x>
10. Koroleva O.V., Molkanova O.I., Mishanova E.V. Biotechnological methods of reproduction and preservation of species and cultivars of the genus

Syringa L. // Acta Horticulturae, 2022, vol. 1339, pp. 87-92. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2022.1339.12>

11. Ahmetova A.Sh., Muhametvafina A.A., Zaripova A.A. Kul'tura *in vitro* predstavitelej roda

Clematis L. // Izvestija Ufimskogo nauchnogo centra RAN, 2017, no. 3, pp. 52-57.

12. Osnovy sozdaniya genobanka *in vitro* vidov, sortov i form dekorativnyh, aromaticeskikh i plodovyh kul'tur. Simferopol': Izdatel'stvo Tipografija «Arial», 2018, 260 p.



PRESERVATION OF BIODIVERSITY OF THE GENUS *SYRINGA* L. IN THE IN VITRO COLLECTION OF MBG RAS

© O.I. Molkanova, E.V. Mishanova, O.V. Koroleva, I.L. Krakhmaleva

FSBIS Tsitsin Main Botanical Garden of Russian Academy of Sciences,
4, ulitsa Botanicheskaya, 127276, Moscow, Russian Federation

Syringa L. is a genus of woody plant species cultivated in temperate climate regions mainly for ornamental spring flowering. In Russia and abroad, the breeding work is focused on several areas, including original flowering, winter hardiness, disease resistance, etc. Conservation of plant genetic diversity, including ornamental crops, for current and future breeding programs is the main task of botanical gardens and other research centers. The biotechnological method is considered one of the most effective and reproducible ways to preserve the plant gene bank. Tsitsin Main Botanical Garden's *in vitro* collection of the genus *Syringa* L. includes more than two hundred accessions (species, subspecies, cultivars, and selected plants). During the research, the methods of *in vitro* cultivation were improved for this crop. The morphogenesis and morphometric parameters were analyzed, when cultivated lilac cultivars on the media with different growth regulators at the micropropagation stage. The analysis of growth regulators used for lilac micropropagation (6-benzylaminopurine, meta-Topolin, tidiazuron) showed that the highest values of essential micropropagation parameters (height of microshoots, multiplication rate, etc.) were obtained when cultivated on nutrient media with the addition of meta-Topolin. Murashige-Skoog medium supplemented with meta-Topolin at the concentrations of 0.5 mg/L and 1.0 mg/L was found effective for lilac micropropagation. The use of meta-Topolin in a medium induced adventitious shoot formation at the base of explants and activation of axillary buds on them. The technique of slow growth preservation was improved for the representatives of the genus *Syringa*. Cultivation under low light intensity (0.7 Klux) and temperature (5–7°C) on a medium added with retardant (4 mg/L of chlorcholine chloride) significantly enlarged subcultivation duration (up to 2.0 years and more) and contributed to preserving the viability of explants (81% on average).

Keywords: *Syringa*, micropropagation, morphogenesis, *in vitro* collection.