

УДК 581.143.6:582.931.4

UDC 581.143.6:582.931.4

DOI 10.30679/2219-5335-2020-1-61-98-107

DOI 10.30679/2219-5335-2020-1-61-98-107

**ВЛИЯНИЕ СРОКОВ ОТБОРА
ЭКСПЛАНТОВ СИРЕНИ
(*SYRINGA VULGARIS* L.)
НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ
И КОНТАМИНАЦИЮ
ПРИ ВВЕДЕНИИ
В КУЛЬТУРУ *IN VITRO***

**INFUENCE OF DATA OF EXPLANT
PICKING FOR SYRINGA
(*SYRINGA VULGARIS* L.)
THE VIABILITY
AND CONTAMINATION
DURING INTRODUCTION
INTO *IN VITRO* CULTURE**

Лободина Елена Вадимовна
младший научный сотрудник
селекционно-биотехнологической
лаборатории

Lobodina Elena Vadimovna
Junior Research Associate
of Breeding and Biotechnology
Laboratory

Супрун Иван Иванович
канд. биол. наук
зав. селекционно-биотехнологической
лабораторией

Suprun Ivan Ivanovich
Cand. Biol. Sci.
Head of Breeding and Biotechnology
Laboratory

Тыщенко Евгения Леонидовна
канд. с.-х. наук
старший научный сотрудник
лаборатории сортоизучения
и селекции садовых культур

Tyshchenko Evgenia Leonidovna
Cand. Agr. Sci.
Senior Research Associate
Of Laboratory of Variety's study
and Breeding of Garden crops

Беленко Евгения Анатольевна
младший научный сотрудник
лаборатории сортоизучения
и селекции садовых культур

Belenko Evgenia Anatolyevna
Junior Research Associate
of Laboratory of Variety's study
and Breeding of Garden crops

*Федеральное государственное
бюджетное научное учреждение
«Северо-Кавказский федеральный
научный центр садоводства,
виноградарства, виноделия»,
Краснодар, Россия*

*Federal State Budget
Scientific Institution
«NorthCaucasian Federal
Scientific Center of Horticulture,
Viticulture, Wine-making»,
Krasnodar, Russia*

Syringa – это род около 27 диких видов цветущих древесных растений семейства Oleaceae. *Syringa vulgaris* L. известен большим разнообразием декоративных сортов и гибридов, что делает его пригодным для использования в городских и сельских ландшафтах. В ботанических садах и питомниках сирень размножают зелеными черенками или прививками, однако не все её сорта хорошо размножаются этими способами. Существуют трудности в размножении

Syringa is a genus of about 27 wild species of flowering woody plants of the Oleaceae family. *Syringa vulgaris* L. is known with a wide variety of decorative varieties and hybrids suitable for use in urban and rural landscapes. In the botanical gardens and nurseries, the lilac is propagated with green cuttings or grafts, but all of its varieties do not reproduce well by these ways. There are difficulties in propagating

наиболее декоративных сортов. Производство большого количества сортовых растений ограничено сезоном, процесс прививки, черенкования и получения отводков трудоёмкий и требует наличия маточных насаждений. Следовательно, возникает необходимость в разработке способов размножения сирени, которые были бы универсальными для всех сортов и позволили бы создать рентабельную технологию быстрого воспроизводства посадочного материала. Методы *in vitro* открыли новые области исследований, позволяющих преодолеть проблемы традиционных методов и обеспечивающих быстрое размножение растений в промышленном масштабе. Растения сирени, полученные методом микроклонального размножения, имеют ряд преимуществ перед привитыми. Они более долговечны, декоративны, быстро развиваются и зацветают, формируют идеальный габитус куста. *In vitro* растения обладают признаками ювенильности, что позволяет их успешно размножить другими вегетативными способами, особенно зелёным черенкованием. Объекты исследований – сорта сирени: Гайзенкалис, Примроуз, Мари Франсес, Красавица Москвы, Сенсация. В статье даны результаты влияния даты отбора (22.04.19 и 15.05.19) на контаминацию и приживаемость эксплантов сирени пяти сортов. Анализ показал, что контаминация микропобегов, отобранных 22.04.2019 была значительно меньше, чем микропобегов, отобранных 15.05.2019 и составила 37,4 % и 67,2 % соответственно. Приживаемость эксплантов составила 57,7 % и 19,2 %.

Ключевые слова: СИРЕНЬ, *IN VITRO*, МИКРОПОБЕГИ, КОНТАМИНАЦИЯ

the most decorative varieties. The production of a large number of varietal plants is limited by the season, the process of grafting, cutting and getting shoots is labor-intensive, and requires the presence of uterine plantations. Therefore, there is a need for development ways to propagate lilac that would be universal for all varieties and would create a cost-effective technology of fast reproduction of planting material. *In vitro* methods have opened up the new areas of research that can overcome the problems of traditional methods and ensure the rapid plants propagation on an industrial scale. Lilac plants obtained by microclonal propagation have several advantages over drafted ones. They are more lasting, decorative, quickly develop and bloom, and form the ideal habitus of the bush. *In vitro* plants have the juvenility signs, which allow them to be successfully propagated by other vegetative methods, especially by green cuttings. Objects of research are lilac varieties: Geisenkalis, Primrose, Marie Frances, Krasavitsa Moskva, Sensatsiya. The article presents the results of influence of the selection date (04/22/19 and 05/15/19) the contamination nation and the survival rate of five lilac varieties explants. The analysis have been shown that the contamination of the microshoots selected on April 22, 2019 was significantly less than that for the microshoots selected on May 15, 2019 and amounted to 37.4 and 67.2 %, respectively. The survival rate of explants was 57.7 % and 19.2 %.

Key words: LILAC, *IN VITRO*, MICRO-SHOOTS, CONTAMINATION

Введение. Сирень обыкновенная (*Syringa Vulgaris* L.) – популярное декоративное цветочное растение, в течение нескольких столетий её культивируют в умеренных широтах Евразии и Северной Америки. Культура

славится большим разнообразием декоративных сортов и гибридов [1-4]. В настоящее время в Международный регистр сирени (International Register and Checklist of Cultivar Names in the Genus *Syringa* L.) внесено около 2000 сортов [5, 6]. Огромным спросом при оформлении городских и сельских ландшафтов пользуются сорта, намного превосходящие по декоративности дикорастущие растения [7].

На данный момент, несмотря на высокий спрос, сортовой ассортимент питомников очень ограничен и представлен сортами и формами, отличающимися легкостью размножения, но не всегда обладающими высокой декоративностью. Это объясняется отсутствием универсальной экономически рентабельной технологии быстрого вегетативного размножения сирени. В связи со сложностью вегетативного размножения некоторых сортов и форм возникает риск утери ценных сортов, что может привести к обеднению генофонда [8].

Возникает необходимость поиска новых методов и способов размножения сирени, которые позволили бы создать универсальную технологию для быстрого наращивания объёмов посадочного материала [9]. В качестве таковой возможно использовать технологию *in vitro*, с помощью которой можно получить необходимое количество растений сирени разных сортов для сохранения коллекций и генофонда в целом. Этот метод как нельзя лучше подходит для вегетативного размножения сортов сирени обыкновенной, которые являются сложными гибридами и при посеве семенами не сохраняют ценные родительские признаки — величину и строение цветочной кисти, размер, окраску и махровость цветка [1, 3, 10, 11].

Ученые провели ряд работ по микроразмножению многих культур, в том числе и сирени. Однако технология не совершенна и возникают сложности, связанные с биологическими особенностями культуры: короткий период активного роста побегов, раннее отмирание верхушечной почки, высокая степень контаминации растений. Все вышеперечисленное усложняет процесс введения сорта в культуру *in vitro* [8, 12].

При оптимизации условий микроклонального размножения исследовано влияние минерального состава среды на рост и развитие побегов *Syringa L.* в культуре *in vitro* [4, 5, 8, 13]. Культивирование побегов сирени на разных питательных средах показало, что для всех исследованных сортов наиболее эффективное клонирование наблюдалось на среде MS [14, 15, 16].

О.И. Молканова с сотрудниками исследовали влияние состава питательной среды, регуляторов роста и генотипа на морфометрические показатели растений сирени, провели крупномасштабную работу и высадили в карантинный питомник 1284 растения 24-х корнесобственных оздоровленных сортов. Комплексное исследование с использованием традиционных и биотехнологических подходов позволило сохранить и увеличить сортовое разнообразие коллекции сирени ГБС РАН и ЦБС НАН Беларуси [5].

Е.М. Лях с соавторами исследовали 20 сортов *Syringa vulgaris* и пришли к выводу, что сортовые особенности оказывают существенное влияние как на регенерационную способность, так и на коэффициент размножения. Кроме того, была усовершенствована методика клонального размножения 11 сортов сирени от инициации меристемы до высадки растений в теплицу [17].

На рост и развитие эксплантов влияет не только состав питательной среды и условия стерилизации микропобегов, но и дата отбора черенков. Так, в работе В.А. Крючковой (2005) приведены результаты влияния фаз развития (распускание почек (май), активный рост побега (июнь), период покоя (февраль-март)) маточных растений сирени на их приживаемость и контаминацию в культуре *in vitro*. Установлено, что оптимальным, с точки зрения приживаемости и степени контаминации, является этап активного роста побега – июнь [8]. Поскольку получение саженцев высокодекоративной сирени методом черенкования затруднено, а в ряде случаев невозможно, особую актуальность приобретает вопрос оптимизации параметров клонального микроразмножения *in vitro*, позволяющих сохранить сортовые особенности и нарастить объёмы посадочного материала [18, 19].

Указанная работа В.А. Крючковой с соавторами выполнялась в условиях Московской области и очевидно, что сроки наступления фенологических фаз существенно отличаются от условий юга России. В связи с тем, что работа по микроклональному размножению сирени в условиях Краснодарского края ранее не проводилась и, соответственно, не выполнялся отбор эксплантов в условиях окружающей среды, нами было выполнено исследование, направленное на определение оптимальных сроков отбора эксплантов сирени обыкновенной для введения в культуру *in vitro*.

Объекты и методы исследований. Объектами исследований являлись сорта сирени Сенсация, Гайзенкалис, Красавица Москвы, Мари Франсес, Примроуз. Черенки с маточных растений нарезали в сухую погоду. Экспланты отбирали с растений возраста пять лет в коллекции сирени СКФНЦСВВ. Для посадки на питательную среду использовали верхушечные и боковые почки трех верхних узлов. Почки промывали проточной водопроводной водой в течение 1 часа, затем в ламинарном боксе стерилизовали в 70 % спирте (1 мин), далее в растворе гипохлорита натрия 5-15 % (20 мин.) с последующей промывкой дистиллированной автоклавированной водой.

Сегменты размером 1-2 см, с одной или двумя пазушными почками, высаживали на среду Мурасиге-Скуга (МС) (стандартная методика 1962 г.), содержащую 8 г/л агар-агара, 30 г/л сахарозы, 2,5 мг/л БАП и 0,025 мг/л ИМК. Отбор эксплантов сирени проводили в два срока: 22.04.19 и 15.05.19. Погодные условия в период отбора приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Погодные условия в феврале-мае 2019 года

Показатель		Месяц			
		Февраль	Март	Апрель	Май
Температура воздуха, °С	ср, мин.	0,07	1,8	5,9	13,5
	ср, макс.	5,7	17,1	18,3	25,4
	средняя	3,08	6,4	11,9	19,1
Осадки, мм		29,4	59	43,9	52,5

Обсуждение результатов. Анализ полученных данных показал, что микропобеги от 22.04.19 даты отбора имели меньший процент контаминации и большее количество прижившихся эксплантов (табл. 2). Полученные данные свидетельствуют о высоком уровне инфекции эксплантов, отобранных 15.05.19. (67 %), в отличие от более раннего срока отбора 22.04.19 (37 %).

Таблица 2 – Влияние срока отбора эксплантов сирени на приживаемость и контаминацию, %

Сорт	Дата отбора экспланта	
	22.04.2019	15.05.2019
	Приживаемость эксплантов, %	
Сенсация	60	30
Гайзенкалис	61,9	4,8
Красавица Москвы	44,4	16,7
Мари Франсес	57,1	15,4
Примроуз	65	29,2
ср. значение	57,68	19,22
	Контаминация, %	
Сенсация	30	60
Гайзенкалис	35	80,9
Красавица Москвы	50	75
Мари Франсес	42,1	72,2
Примроуз	30	37,5
ср. значение	37,42	67,12

Экспланты поражались как на начальных этапах развития (до образования микропобегов), так и на более поздних сроках (рис. 1 а, б).



Примечание: А - ранние сроки развития эксплантов; Б - экспланты 3-х недельного возраста

Рис. 1. Контаминация эксплантов

Экспланты, культивируемые с 22.04.19, имели не только меньший процент контаминации и бóльшую приживаемость, они также отличались по внешнему виду. Микропобеги трогались в рост раньше, имели яркий насыщенный зеленый окрас без признаков хлороза и гипергидричности листьев (рис. 2).



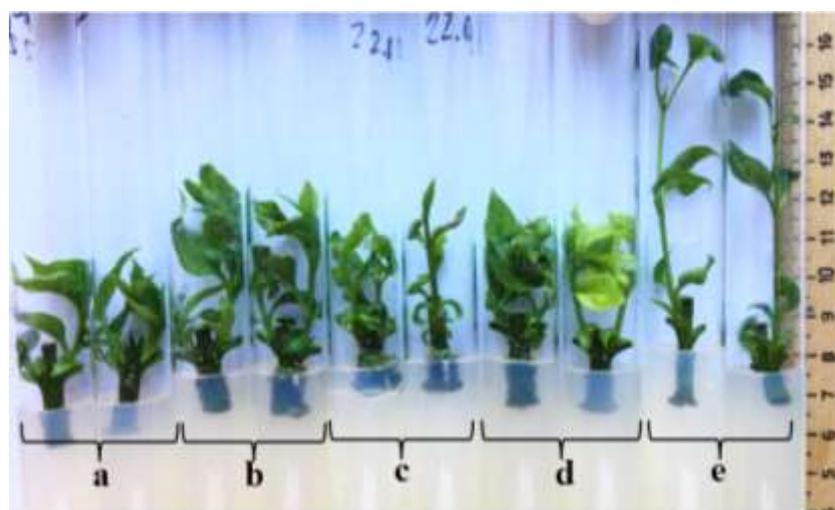
Рис. 2. Внешний вид здоровых микропобегов

Рост почки начинался спустя неделю после посадки эксплантов. К концу четвертой недели культивирования мы измерили длину образовавшихся микропобегов. Необходимо отметить, что с высокой частотой наблюдалось развитие микропобегов одновременно из двух пазушных почек экспланта, что свидетельствует об оптимальных условиях культивирования (компоненты питательной среды, гормональный состав, условия стерилизации). Наибольшая длина побегов отмечалась у сорта Примроуз – 3,27 см; наименьшая – у Красавицы Москвы (1,42 см). По количеству развивающихся микропобегов на экспланте (1 или 2) преобладал сорт Сенсация (1,7 шт.), у данного сорта одновременное развитие двух микропобегов встречалось с наибольшей частотой (табл. 3).

Из рисунка 3 видно, что развитие микропобегов сирени зависело от генетических особенностей сорта. Наибольшей отличительной чертой обладал сорт Примроуз, экспланты которого зачастую давали 1 длинный побег. Наименьшей длиной побегов обладал сорт Красавица Москвы.

Таблица 3 – Количество побегов на экспланте и их длина

Сорт	Кол-во побегов на экспланте, ср. знач., шт	Длина побега, ср. знач., см
Сенсация	1,7	2,95
Гайзенкалис	1,6	2,25
Красавица Москвы	1,3	1,42
Мари Франсес	1,5	1,91
Примроуз	1,4	3,27



Примечание: а – Красавица Москвы; b – Гайзенкалис; с – Сенсация; d – Мари Франсес; e – Примроуз.

Рис. 3. Микропобеги сирени 3-х недельного возраста

Заключение. В результате проведённых исследований выявлены закономерности влияния даты отбора эксплантов на рост и контаминацию микропобегов сирени. Третья декада апреля для нашего региона (Краснодарский край) является оптимальным сроком нарезки черенков для культуры *in vitro* сирени. Более поздние сроки отбора (в нашем случае 15.05.19) ведут к накоплению инфекции (67,2 %) и низкому проценту приживаемости эксплантов (19,2 %).

Литература

1. Dirr M., Heuser C. The Reference Manual of Woody Plant Propagation: From Seed to Tissue Culture. Varsity Press, Inc. Athens, Georgia. 1987. 203–205 p.

2. Dirr M. Manual of woody landscape plants: Their identification, ornamental characteristics, culture, propagation and uses. Fifth Edition. Stipes publishing L.L.C. Champaign. Illinois, 1998. 1187 p.
3. Fiala J.L. Lilacs: a gardener's encyclopedia. 2-nd. Edition, Timber Press, Inc. Portland, Oregon, 2008. 416 p.
4. Rudolf P.O., Slabaugh P.E., Shaw N.L. *Syringa* L. (lilac). Woody Plant Seed Manual, 2008. 1083–1086 p.
5. Разработка биотехнологических приемов размножения сирени обыкновенной / О.И. Молканова и др. // Физиология и биохимия культ. растений. 2010. Т. 42. № 2. С. 117-124.
6. Молканова О.И., Чурикова О.А., Коновалова Л.Н., Окунева И.Б. Клональное микроразмножение интродуцированных сортов *Syringa vulgaris* L. // Вестн. Моск. ун-та. Сер. Биология. 2002. № 4. С. 8-14.
7. Hildebrandt V., Harney P.M. *In vitro* propagation of *Syringa vulgaris* 'Vesper' // Hortsci. 1983. P. 432-434.
8. Крючкова В.А. Биотехнологические приемы оптимизации микрклонального размножения и адаптации генотипов сирени (*Syringa vulgaris* L.): автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.23 / Крючкова Виктория Александровна. Москва, 2005. 18 с.
9. Hartmann H.T., Kester D.E., Davies F.T., Geneve R.L. Hartmann and Kester's plant propagation. Principles and practices. Seventh edition. Prentice Hall. Upper Saddle River, New Jersey, 2002. 880 p.
10. Сергеичук А.Г., Стрелец В.Д. Особенности доращивания растений сирени обыкновенной, полученных методом микрклонального размножения // Известия ТСХА. 2007. № 3. С. 113-117.
11. Lyubomirova T., Iliev I. *IN VITRO* propagation of *Syringa vulgaris* L. // Forestry Ideas. 2013. V. 19. № 2 (46). P. 173–185.
12. Einset J.W., Alexander J.H. (III) Multiplication of *Syringa vulgaris* species and cultivars in tissue culture. Comb. Proc. Int. Plant prop. Soc. 1985.V. 34. P. 628-636.
13. Oprea M., Duta M. The behaviour of *Syringa vulgaris* in the processes of *in vitro* culture. BULL. UASVM HORT.2008. V. 65. P. 491.
14. Cui H., Gu X., Shi L. *In vitro* proliferation from axillary buds and ex vitro protocol for effective propagation of *Syringa* x *hyacinthiflora* 'Luo Lan Zi'. SCI. HORT. 2009. V. 121. P. 186-191.
15. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture // *Physiol. plant.* 1962. Vol. 15. P. 473-497.
16. Брель Н.Г., Фоменко Т.И., Спиридович Е.В. Особенности культивирования тканей рода сирень (*Syringa* L.) в культуре *in vitro*. Материалы III Международной конференции, посвященной 110-летию со дня рождения академика Н.В. Смольского (7-9 октября 2015 г., Минск, Беларусь), 2005. 282 с.
17. Лях Е.М. Изучение сортов *Syringa vulgaris* из коллекции центрального сибирского ботанического сада СО РАН // Растительный мир Азиатской России. 2015. № 3(19). С. 99-103.
18. Gabryszewska E. A preliminary study on *in vitro* propagation *Syringa vulgaris* L. // *Acta hort.* 1989. V. 251. P. 205-208.
19. Gabryszewska E., Warabieda D. Ukorzenianie mikrosadzonek lilaka zwyczajnego (*Syringa vulgaris* L.) cv. Madame Florent Stepman *in vitro* i *in vivo* // *Pr. Inst. Sad. I kwiac. Seria b.* 1992. V. 17. P. 189-202.
20. <http://www.pogodaiklimat.ru/monitor.php?id=34927&month=5&year=2019>

References

1. Dirr M., Heuser C. The Reference Manual of Woody Plant Propagation: From Seed to Tissue Culture. Varsity Press, Inc. Athens, Georgia. 1987. 203–205 p.
2. Dirr M. Manual of woody landscape plants: Their identification, ornamental characteristics, culture, propagation and uses. Fifth Edition. Stipes publishing L.L.C. Champaign. Illinois, 1998. 1187 p.
3. Fiala J.L. Lilacs: a gardener's encyclopedia. 2-nd. Edition, Timber Press, Inc. Portland, Oregon, 2008. 416 p.
4. Rudolf P.O., Slabaugh P.E., Shaw N.L. *Syringa L.* (lilac). Woody Plant Seed Manual, 2008. 1083-1086 p.
5. Razrabotka biotekhnologicheskikh priemov razmnozheniya sireni obyknovennoj / O.I. Molkanova i dr. // Fiziologiya i biohimiya kul't. rastenij. 2010. T. 42. № 2 S. 117-124.
6. Molkanova O.I., Churikova O.A., Konovalova L.N., Okuneva I.B. Klonal'noe mikro-razmnozhenie introducirovannyh sortov *Syringa vulgaris L.* // Vestn. Mosk. un-ta. Ser. Biologiya. 2002. № 4. S. 8-14.
7. Hildebrandt V., Harney P.M. In vitro propagation of *Syringa vulgaris* 'Vesper' // Hortsci. 1983. P. 432-434.
8. Kryuchkova V.A. Biotekhnologicheskie priemy optimizacii mikroklonal'nogo razmnozheniya i adaptacii genotipov sireni (*Syringa vulgaris L.*): avtoref. dis. ... kand. biol. nauk : 03.00.23 / Kryuchkova Viktoriya Aleksandrovna. Moskva, 2005. 18 s.
9. Hartmann H.T., Kester D.E., Davies F.T., Geneve R.L. Hartmann and Kester's plant propagation. Principles and practices. Seventh edition. Prentice Hall. Upper Saddle River, New Jersey, 2002. 880 p.
10. Sergeichuk A.G., Strelec V.D. Osobennosti dorashchivaniya rastenij sireni obyknovennoj, poluchennyh metodom mikroklonal'nogo razmnozheniya // Izvestiya TSHA. 2007. № 3. S. 113-117.
11. Lyubomirova T., Iliev I. *IN VITRO* propagation of *Syringa vulgaris L.* // Forestry Ideas. 2013. V. 19. № 2 (46). P. 173–185.
12. Einset J.W., Alexander J.H. (III) Multiplication of *Syringa vulgaris* species and cultivars in tissue culture. Comb. Proc. Int. Plant prop. Soc. 1985.V. 34. P. 628-636.
13. Oprea M., Duta M. The behaviour of *Syringa vulgaris* in the processes of *in vitro* culture. BULL. UASVM HORT.2008. V. 65. P. 491.
14. Cui H., Gu X., Shi L. In vitro proliferation from axillary buds and ex vitro protocol for effective propagation of *Syringa x hyacinthiflora* 'Luo Lan Zi'. SCI. HORT. 2009. V. 121. P. 186-191.
15. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture // Physiol. plant. 1962. Vol. 15. P. 473-497.
16. Brel' N.G., Fomenko T.I., Spiridovich E.V. Osobennosti kul'tivirovaniya tkanej roda sireni' (*Syringa L.*) v kul'ture *in vitro*. Materialy III Mezhdunarodnoj konferencii, posvyashchennoj 110-letiyu so dnya rozhdeniya akademika N.V. Smol'skogo (7-9 oktyabrya 2015 g., Minsk, Belarus'), 2005. 282 s.
17. Lyah E.M. Izuchenie sortov *Syringa vulgaris* iz kollekcii central'nogo sibirskogo botanicheskogo sada SO RAN // Rastitel'nyj mir Aziatskoj Rossii. 2015. № 3(19). S. 99–103.
18. Gabryszewska E. A preliminary study on in vitro propagation *Syringa vulgaris L.* // Acta hort. 1989. V. 251. P. 205-208.
19. Gabryszewska E., Warabieda D. Ukorzenianie mikrosadzonek lilaka zwyczajnego (*Syringa vulgaris L.*) cv. Madame Florent Stepman *in vitro* i *in vivo* // Pr. Inst. Sad. I kwiac. Seria b. 1992. V. 17. P. 189-202.
20. <http://www.pogodaiklimat.ru/monitor.php?id=34927&month=5&year=2019>