

Литература

1. Кунах В.Р. Биотехнологія лікарські рослин. Генетичні та фізіолого-біохімічні основи.— К.: Логос, 2005.— 730 с.
2. Носов А.М. Регуляция синтеза вторичных соединений в культуре клеток растений // Биология культивируемых клеток и биотехнология растений.— М.: Наука, 1991.— С. 5–20.
3. Калинин Ф.Л., Сарнацкая В.В., Полищук В.Е. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений.— К.: Наукова думка, 1980.— 488 с.
4. Культура клеток растений: [Сб. ст.] / АН СССР, Ин-т физиологии растений им. К.А. Тимирязева / Отв. ред. Р.Г. Бутенко.— М.: Наука, 1981.— 168 с.
5. Шаришнова М. Тонкослойная хроматография в фармации и клинической биохимии.— М.: Мир, 1980.— 621 с.
6. Запрометов М.Н. Фенольные соединения: Распространение, метаболизм и функции.— М.: Наука, 1989.— 254 с.
7. Скиба А.А., Чмелева С.И. Каллусные культуры гинкго двулопастного (*Ginkgo biloba* L.) — продуценты важных биологически активных веществ // Биология від молекули до ноосфери: матеріали II Міжнар. конф. (Харків, 19–21 лист. 2007 р.).— Х.: Планета-Принт, 2007.— С. 416.
8. Машковский М.Д. Лекарственные средства.— М.: Новая волна, 2008.— Т.2.— 1206 с.
9. Пасишниченко В.А. Новый альтернативный путь биосинтеза изопреноидов у бактерий и растений // Биохимия.— 1998.— Т.63, №2.— С. 171–182.

Резюме

Проведенные исследования позволили оптимизировать условия получения первичных каллусных культур *G. biloba*, *T. baccata*, *N. oleander* и их субкультивирования. Исследованы ростовые параметры каллусных культур и выделены штаммы с повышенным ростовым индексом, содержащие биологически активные вещества.

Проведені дослідження дозволили оптимізувати умови отримання первинних каллюсних культур *G. biloba*, *T. baccata*, *N. oleander* та їх субкультивування. Досліджено ростові параметри каллюсних культур і виділено штами з підвищеним ростовим індексом, які містять біологічно активні речовини.

Our studies have allowed to optimize the conditions for receiving primary callus cultures of *G. biloba*, *T. baccata*, *N. oleander* and subculturing. The growth parameters of callus cultures were investigated and isolated strains with increased index containing biologically active substances.

ЧУРИКОВА О.А.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Россия,
119991, Москва, ГСП-1, Ленинские горы,
e-mail: ochurikova@yandex.ru, vvmur@hotmail.ru

ПОДДЕРЖАНИЕ И ВОЗОБНОВЛЕНИЕ КОЛЛЕКЦИИ СОРТОВОЙ СИРЕНИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЕМОВ

Сокращение биологического разнообразия — одна из основных глобальных экологических проблем, стоящих перед человечеством на современном этапе. Постоянно существующая в мире угроза генетическим ресур-

сам растений, вызываемая неблагоприятным воздействием экологических факторов, антропогенной деятельностью и негарантированность результатов традиционных приемов обусловили необходимость разработки альтернативных путей сохранения и восстановления редких и ценных видов и сортов растений [1].

Клональное микроразмножение является одним из приоритетных направлений биотехнологии, успешно развивающихся в настоящее время и открывающих новые возможности сохранения генофонда растений в условиях *in vitro*. Растения, полученные этим методом *in vitro*, имеют очевидные преимущества по сравнению с традиционно размноженными растениями (скорость и энергия роста, высокие показатели цветения и др.). Значение его для ускоренного внедрения в производство ценного сорта или уникального по своим качествам генотипа обусловлено чрезвычайной быстротой размножения новых растений из малого количества исходного материала. Основой для разработки биотехнологических приемов размножения и культивирования растений является изучение их биологических особенностей в природных условиях и в коллекциях ботанических садов.

Сирень — наиболее популярное и любимое красивоцветущее древесное растение нашей климатической зоны. Сортвая сирень сосредоточена, в основном, в коллекциях ботанических садов и крупных интродукционных центрах, где, как правило, представлена малым количеством взрослых экземпляров.

В ботаническом саду Московского университета на Ленинских горах в начале 50-х годов XX века были высажены лучшие сорта сирени зарубежной селекции. В 1974 году началось создание научной коллекции сортовой сирени, гордостью которой является собрание сортов выдающегося селекционера Л.А. Колесникова. В ней имеются также сорта, выведенные им совместно с В.Д. Мироновичем, сорта других отечественных селекционеров: Н.К. Вехова, Н.Л. Михайлова, Н.В. Смолинского, В.Ф. Бибиковой, Л.И. Рубцовой, В.Г. Жоголевой, Н.А. Ляпуновой, А.Ф. Мельник, В.Г. Рубаник и Б. Дягилева [2]. Коллекция сирени ботанического сада МГУ создавалась в первую очередь для дальнейшего развертывания научных исследований с этой культурой; для расширения селекционной работы, отработки агротехнических мероприятий и отбора наиболее устойчивых сортов, пригодных для практики озеленения в условиях московского мегаполиса и т.д.

Из коллекции нами были отобраны растения 15 высокодекоративных сортов сирени обыкновенной отечественной селекции для дальнейшего изучения возможности их размножения с использованием биотехнологических методов. Цель исследований заключалась в совершенствовании технологии размножения интродуцированных сортов *Syringa vulgaris* L., изучении влияния генотипических особенностей, гормонального состава питательных сред, условий культивирования на развитие и рост микропобегов сирени, а также возможности поддержания их культуры в условиях минимального роста *in vitro*.

Материалы и методы

Для индукции культуры в качестве эксплантов брали апикальные и латеральные почки зрелых и молодых побегов сирени с небольшим участком стебля и фрагменты стебля длиной 1–1,5 см с двумя пазушными почками в период активного роста. В качестве стерилизаторов использовали 7% раствор гипохлорита кальция (15–20 мин) в сочетании с обработкой 70% этанолом (1–2 мин). После стерилизации почки промывали 3 раза в стерильной дистиллированной воде. Для индукции морфогенеза *in vitro* использовали питательную среду с основой по Мурасиге и Скугу (MS) [4] с добавлением 30 г сахарозы и 0,5–1,5 мг/л 6-бензиламинопурина (6-БАП). Для размножения использовали среды: а) MS с 20 г/л сахарозы и 1,5 мг/л 6-БАП б) MS с 20 г/л сахарозы, 1,5 дозой макроэлементов и добавлением 0,1 мг/л тидиазурона (TDZ). Укоренение полученных микропобегов проводили на среде 1/2 MS или MS с 1 мг/л индолилуксусной кислоты (ИУК). Адаптацию укорененных *in vitro* растений проводили в микропарничках в условиях повышенной влажности и освещенности в течение 1–1,5 мес.

Результаты и обсуждение

У эксплантов сирени в культуре *in vitro* наблюдалась реализация организменного потенциала зачатков пазушных почек, а также активизация деятельности клеток пазушной меристемы. Морфолого-анатомический анализ эксплантов показал, что образующиеся побеги являются по происхождению аксиллярными. Изучение влияния состава питательной среды и типа добавляемого цитокинина на регенерационную способность сирени показало, что максимальный коэффициент размножения достигался при использовании среды с 1,5 дозой макросолей и 0,1 мг/л TDZ. Тидиазурон оказывал стимулирующее влияние на процесс формирования дополнительных пазушных почек и, впоследствии, побегов. На этапе размножения наиболее отчетливо проявлялись сортовые особенности, что находило свое отражение в различном числе дополнительно закладывающихся почек и развивающихся из них, впоследствии, побегов. На среде MS с одной дозой макросолей и 1,5 мг/л 6-ВАР также наблюдался геммогенез. Спустя 35–40 дней практически у всех сортов, высаженных на среду для размножения, начиналось эндогенное заложение адвентивных корней на осях развивающихся микропобегов, чего не было отмечено на средах других модификаций. Таким образом, данная среда может быть универсальной как для индукции геммогенеза, так и для ризогенеза. Ранее при изучении процесса укоренения сирени нами были показаны преимущества ИУК (0,1 мг/л) по сравнению с другими гормонами [3]. Однако использование среды MS, содержащей 1,5 мг/л 6-БАП, для индукции гемморизогенеза позволяет сократить расходы и повысить экономическую эффективность метода микрореклонального размножения.

На этапах укоренения и адаптации полученных микропобегов к условиям *in vivo* использование сфагнума положительно сказывалось на подготовке листового аппарата растений к условиям пониженной влажности воздуха. Впоследствии растения легче адаптировались к условиям теплицы.

Лучшим субстратом для адаптации регенерантов является автоклавированная почвенная смесь: торф: дерновая земля: песок в соотношении 1:1:2. Такая технология с сокращенным циклом с 3-х до 2-х стадий за счет исключения этапа укоренения на питательной среде позволяет уменьшить период адаптации полученных регенерантов к условиям *in vivo*.

Этап собственно микроразмножения является ключевым и наиболее важным для биотехнологического цикла культивирования растений. При этом необходимо соблюдение условий культивирования и факторов, влияющих на реализацию морфогенетического потенциала эксплантов, в частности, температурного режима. В ходе эксперимента было выявлено, что сорта П.П. Кончаловский, Великая Победа, Минчанка оказались наиболее устойчивыми к воздействию более высоких по сравнению с оптимальными температур (выше 24 °С). Они могли культивироваться в таких условиях без пересаживания на свежую питательную среду в течение 6 месяцев, сохраняя при этом жизнеспособность и высокую регенерационную активность.

Периодическое субкультивирование полученных растений трудоемко и значительно удорожает содержание коллекции. В настоящее время интенсивно изучается возможность снижения температуры культивирования, за счет которого достигается удлинение периода между пересадками (пассажами) до 12–14 мес. Сохранение растений-регенерантов при пониженных температурах не имеет негативных последствий и даже способствует их более интенсивному росту после переноса в нормальные условия. Создание банка культур для длительного хранения редких и полезных растений является важнейшим достижением биотехнологии. Многообразие возможностей, предоставляемых современной биотехнологией растений, позволяет успешно использовать ее новые подходы для решения многих практических и теоретических проблем биологии.

Выводы

1. Оптимальными средами для регенерации сирени обыкновенной следует считать две модификации основной питательной среды Мурашиге и Скуга, содержащие полуторную дозу макросолей с добавлением 1,5 мг/л 6-БАП или 0,1 мг/л TDZ.

2. На основании изучения морфогенетических процессов в эксплантах сирени показана возможность получения растений-регенерантов через прямой органогенез, минуя стадию каллусообразования.

3. Особенности и интенсивность морфогенеза у изученных сортов сирени обыкновенной обусловлены, главным образом, генотипом растений, определяющим потенциальную способность к регенерации.

4. Разработка методов поддержания и сохранения коллекции видов и сортов растений в условиях *in vitro* путем минимализации их ростовых процессов является перспективным современным направлением исследований.

Литература

1. Кутас Е.Н. Клональное микроразмножение — альтернативный путь сохранения биоразнообразия растений // Биотехнология как инструмент сохранения

биоразнообразия растительного мира / Под ред. А.С. Демидова; отд. биол. наук РАН, Сов. Бот. садов России.— Белгород: Изд-во БелГУ.— 2008.— 332 с.

2. Ботанический сад Московского университета. 1706–2006. Первое научное ботаническое учреждение России / Под ред. В.С. Новикова, М.Г. Пименова, К.В. Киселевой, В.Е. Гохмана, А.Ю. Паршина.— Москва: Товарищество научных изданий КМК.— 2006.— 280 с.

3. Молканова О.И., Чурикова О.А., Коновалова Л.Н., Окунева И.Б. Клональное микроразмножение интродуцированных сортов *Syringa vulgaris* L. // Вестн. Моск. ун-та. Сер.16. Биология.— 2002, №4.— С. 8–14.

4. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture // *Physiol. Plant.*—1962.— Vol.15, №2.— P. 473–497.

Резюме

В последние годы для сохранения биоразнообразия растений успешно используются методы культуры *in vitro*. Усовершенствована технология ускоренного размножения сортов сирени обыкновенной. Показана возможность получения регенерантов посредством прямого органогенеза, отмечены особенности морфогенеза *in vitro*.

В останні роки для збереження біорозмаїття рослин успішно використовуються методи культури *in vitro*. Удосконалена технологія прискореного розмноження сортів бузку звичайної. Показана можливість одержання регенерантів за допомогою прямого органогенезу, відзначені особливості морфогенезу *in vitro*.

In vitro techniques have found increasing use in protection of plant biodiversity in recent years. Technology of express propagation of *Syringa vulgaris* L. cultivars *in vitro* is improved. The possibility of obtaining the regenerants via direct organogenesis is showed, the peculiarities of morphogenesis *in vitro* being revealed.

**ШЕЛУДЬКО Ю.В.¹, САХНО Л.А.¹, ГЕРАСИМЕНКО И.М.¹,
СИНДАРОВСКАЯ Я.Р.¹, КЛОЧКО В.В.², ОСТАПЧУК А.Н.²,
ГОЛДЕНКОВА-ПАВЛОВА И.В.³**

¹Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАН Украины,
ул. Заболотного, 148, г. Киев, 03680, Украина; e-mail: ysheludko@ukr.net

²Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины,
ул. Заболотного, 152, г. Киев, 03680, Украина

³Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, ул. Губкина, 3, г. Москва,
119991, Россия

ГЕТЕРОЛОГИЧЕСКАЯ ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ АЦИЛ-ЛИПИДНЫХ ДЕСАТУРАЗ ЦИАНОБАКТЕРИЙ В РАСТЕНИЯХ

Изучение механизмов устойчивости растений к неблагоприятным факторам окружающей среды и создание новых устойчивых форм методами генетической инженерии является актуальной задачей биотехнологии в усло-