

УДК 58.085:582.931.4

ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РАЗНЫХ ТИПОВ ЭКСПЛАНТОВ И СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ ДЛЯ СОЗДАНИЯ МЕДЛЕННО РАСТУЩЕЙ КУЛЬТУРЫ СИРЕНИ *IN VITRO*

О.А. Чурикова¹, А.А. Креницына²

Использование медленно растущих культур *in vitro* – альтернативный способ сохранения генетических ресурсов дикорастущих видов и сортов растений. Их получение является одним из важных этапов при создании и сохранении живых коллекций *in vitro*. Сохранение ростового потенциала культуры в условиях замедленного роста зависит не только от генотипа, но и от типа экспланта и состава питательной среды. Для сортов сирени «П.П. Кончаловский» и «Великая Победа» депонирование на 3 месяца возможно как с помощью одноузловых черенков, так и с помощью микропобегов, причем для последних снижение концентрации солей или гормона N6-(Δ 2-изопентил) аденин (2-iP) практически не влияет на сохранение ростового потенциала. По истечении указанного срока как одноузловые черенки, так и микропобеги оставались жизнеспособными, а при дальнейшем черенковании и культивировании в стандартных условиях их коэффициент размножения не изменялся. Депонирование этих двух сортов на более длительные сроки с помощью одноузловых черенков оказалось нецелесообразным. Использование одноузловых черенков для создания медленно растущей культуры сорта «Обманщица» оказалось неперспективным.

Ключевые слова: сирень, микропобеги, одноузловые черенки, медленно растущая культура, *in vitro*.

В настоящее время актуальна разработка комплексной стратегии, объединяющей традиционные подходы сохранения генетических ресурсов растений с открывающимися новые возможности современными технологиями хранения в условиях *in vitro*.

Использование медленно растущих культур *in vitro* – прекрасный альтернативный способ, обеспечивающий сохранение генетических ресурсов дикорастущих видов и ценных сортов, контроль за ростом и развитием, облегчение процесса обмена генетическими ресурсами растений, уменьшение площадей для их выращивания, сокращение затрат труда и расходов по содержанию и тестированию производимой продукции на жизнеспособность. При средних сроках хранения (slow growth storage) культуры более стабильны, чем при длительном хранении, например криоконсервации (Castillo et al., 2010, Martin et al., 2011). При необходимости возможен возврат культивируемых растений к

нормальным условиям содержания и последующему размножению интересующих образцов.

Основной принцип содержания культур в условиях замедленного роста *in vitro* состоит в том, что их сохранность осуществляется за счет отсутствия частого субкультивирования. Значительное число пассажей является основным препятствием для сохранения генетической стабильности растительного материала и индуцирует соматическую изменчивость в асептических условиях (Peyvand et al., 2009). Увеличение продолжительности интервала между пассажами обеспечивается снижением температуры культивирования и/или изменением состава питательной среды (Withers, 1987, 1991, Da Silva et al., 2018).

В известной нам литературе среди объектов исследований по разработке приемов сохранения растений в условиях замедленного роста встречаются как древесные, так и травянистые растения из разных семейств. Особенный интерес пред-

¹ Чурикова Ольга Альбертовна – ст. науч. сотр. лаборатории биологии развития растений кафедры высших растений биологического факультета МГУ, канд. биол. наук (ochurikova@yandex.ru); ² Креницына Анастасия Александровна – ст. науч. сотр. лаборатории биологии развития растений кафедры высших растений биологического факультета МГУ, доцент кафедры фармацевтического естествознания Института фармации МГМУ им. И.М. Сеченова, канд. биол. наук (krinitsina@msu-botany.ru).

ставляют размножаемые вегетативно древесные плодовые и декоративные садовые культуры, имеющие большое хозяйственное значение. Для многих из них разработаны приемы культивирования и хранения в условиях *in vitro* при пониженной температуре (Ташматова и др., 2015; Бядовский, 2018; Lundergan, Janick, 1979; Marino et al., 1985; Arbeloa et al., 2017; Sedlac et al., 2019). Наиболее часто используют два варианта температурных режимов: 10–15 °С для растений субтропиков и тропиков и 2–5 °С для растений умеренной зоны (Lambardi, Ozudogru, 2013). Продолжительность нахождения культуры в таких условиях зависит от генотипа, причем не только от вида, но и от сорта культуры. Например, одни сорта оливы сохраняли ростовой потенциал при 4–6 °С в течение 5–8 месяцев, тогда как другие через 2 месяца погибали (Gardi et al., 2001, Lambardi et al., 2002). Виноград (Galzy, 1969, Barlass, Skene, 1983), виды рода *Prunus* (Marino et al., 1958, Gianni, Sottile, 2015), виды и сорта яблони (Lundergan, Janick, 1979, Negri, 2000) были успешно депонированы на 6–12 месяцев при температуре от +2 до (+4)–(+9) °С.

На возможность продления периода депонирования культуры при низкой положительной температуре без последующего изменения параметров роста оказывает влияние (кроме температуры) не только генотип растений, но и состав питательной среды и тип экспланта. В основном, культивирование растений в условиях медленно растущей культуры осуществляют на тех же питательных средах, что и при размножении (Lambardi, Ozudogru, 2013). Однако в ряде работ было показано, что изменение концентрации солей в питательной среде МС может приводить к увеличению сроков депонирования микропобегов с 7 до 14–16 месяцев (Ташматова и др., 2015 Ahmed et al., 2010; Arbeloa et al., 2017). При этом коэффициент размножения микропобегов некоторых видов после депонирования при пониженной температуре на среде со сниженной концентрацией солей оказался выше, чем у тех, которые культивировали на стандартной среде (Arbeloa et al., 2017).

Одним из самых распространенных вариантов эксплантов, которые закладывают в условия пониженной температуры, являются микропобеги разных размеров (в основном 1–3 см) с разным числом узлов (Lambardi, Ozudogru, 2013). Наряду с микропобегами для создания медленно растущей культуры используют одноузловые черенки (Janeiro et al., 1995, Negri et al., 2000). Для некоторых видов растений было показано, что выбор

эксплантов для депонирования при низкой положительной температуре (одноузловые черенки или микропобеги) не имел принципиального значения (Janeiro et al., 1995).

Syringa vulgaris L. – декоративный кустарник, распространенный не только на территории России, но и во многих европейских странах. В настоящее время насчитывается более 2000 сортов этой культуры, многие из которых активно используют для озеленения в садово-парковых зонах (Полякова, Балмышева, 2007). Для многих сортов сирени отработаны методики микроклонального размножения (например, Крючкова, 2005; Молканова и др., 2010; Чурикова, Криницына, 2019 и др.; Pierik et al. 1988). Однако работы, связанные с отработкой условий замедленного роста для данной культуры, в настоящее время практически отсутствуют.

Ранее было показано, что снижение температуры культивирования до 15 °С не влияет на ростовые процессы микропобегов некоторых сортов сирени (Gabryszewska, 2011). Результаты наших предыдущих исследований показали, что в зависимости от сорта ростовой потенциал микропобегов в условиях культивирования при +10 °С может сохраняться до 9 месяцев (Чурикова, Криницына, 2018). Согласно данным некоторых исследователей (Королева, Молканова, 2019), другие сорта сирени возможно сохранять в стерильной культуре при +5–7 °С от 6 до 24 месяцев.

В данной работе мы попытались оценить возможность использования в качестве эксплантов при создании медленно растущей культуры одноузловых черенков на примере трех сортов сирени, а также оценить влияние состава питательной среды на рост и развитие микропобегов сирени двух сортов при низкой положительной температуре при средних сроках хранения.

Материалы и методы

Для работы были использованы сорта сирени «Великая Победа», «П.П. Кончаловский» и «Обманщица» из коллекции Ботанического сада МГУ. Первые два сорта были введены в стерильную культуру в 2010 г., а сорт «Обманщица» – в 2013 г. Культивирование в асептических условиях проводили с использованием среды Мурасиге и Скуга (МС) (Murashige, Skoog, 1962) с добавлением 1,5 мг/л N6-(Δ 2-изопентил) аденина (2-іР) и 20 г/л сахарозы (22 °С, фотопериод 16 ч день / 8 ч ночь, освещенность 4900 люкс).

Для определения возможности использования при создании медленно растущей культуры

в качестве эксплантов одноузловых черенков микропобеги трех указанных сортов делили на микрочеренки, состоящие из одного узла и двух пазушных почек, которые высаживали на свежую среду МС (10 мл) того же состава в чашки Петри. Дальнейшее культивирование проводили без пересадок при +10 °С, стандартном фотопериоде 16 ч день / 8 ч ночь, освещенности 1500 лк в течение 9 месяцев с промежуточным визуальным контролем их состояния через 3 и 6 месяцев. В каждую чашку Петри помещали 10 одноузловых черенков. Всего закладывали по 30 эксплантов каждого сорта в двух повторностях. Через 3, 6 и 9 месяцев подсчитывали число эксплантов с одним и двумя развивающимися побегами, число эксплантов с раневым каллусом и число эксплантов, пазушные почки которых не трогались в рост.

Каждые 3, 6 и 9 месяцев треть эксплантов переносили на свежую питательную среду того же состава и помещали в стандартные условия культивирования. Через 1 месяц подсчитывали общее число развившихся пазушных побегов, определяли коэффициент размножения (K_p), измеряли длину побегов и число узлов. Для сравнения в эти же сроки проводили пассирование культуры сирени тех же сортов, которые выращивались при стандартных условиях.

Для оценки возможного влияния состава питательной среды на замедление ростовых процессов экспланты (микропобеги двух сортов «Великая Победа» и «П.П. Кончаловский», представляющие собой апекс и два развитых узла) помещали на питательные среды следующего состава: МС с добавлением 0,5 мг/л 2-иР и 20 г/л сахарозы, МС с добавлением 1,5 мг/л 2-иР 20 г/л сахарозы и МС с половинным содержанием макросолей (1/2 МС) с добавлением 1,5 мг/л 2-иР и 20 г/л сахарозы. Микропобеги, высаженные на указанные выше питательные среды, культивировали без пересадки при +10 °С, стандартном фотопериоде (16 ч день / 8 ч ночь), освещенности 4900 люкс в течение 3 месяцев. По истечении указанного периода измеряли высоту микропобегов, число узлов и определяли среднюю длину междоузлий. Далее микропобеги пассировали (делили на одноузловые микрочеренки) на среду МС с добавлением 20 г/л сахарозы и 1,5 мг/л 2-иР, а затем культивировали при стандартных условиях (+22 °С, 16 ч день / 8 ч ночь, освещенности 4900 лк) в течение 1 месяца. В конце указанного периода определяли число вновь развившихся пазушных микропобегов, измеряли их высоту и число узлов. Для каждого сорта определяли коэффициент размножения (K_p). Всего на каждый вариант опыта закладывали по 15 микропобегов

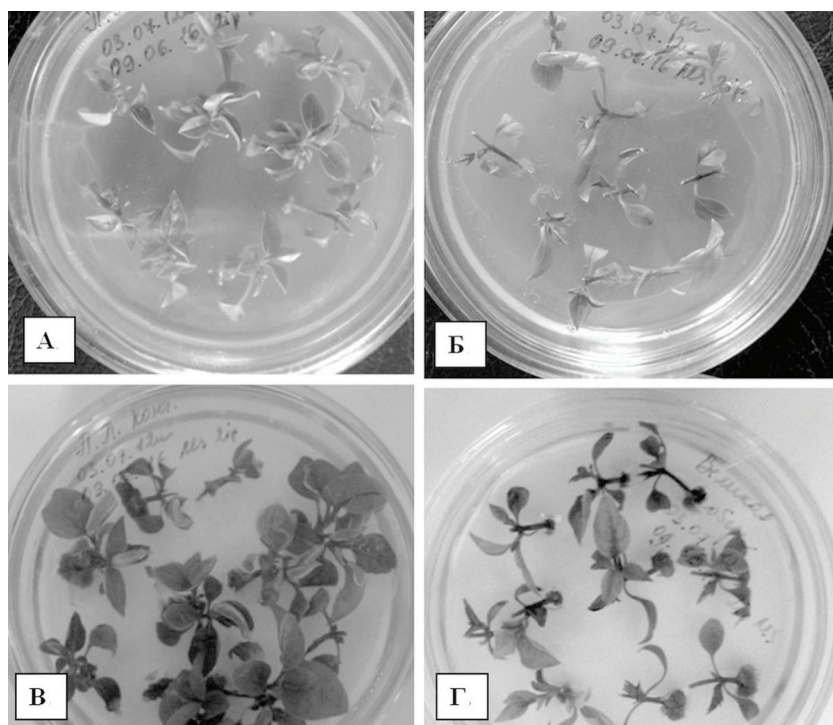


Рис. 1. Внешний вид одноузловых черенков сортов «П.П. Кончаловский» (А, В) и «Великая Победа» (Б, Г) через 3 (А, Б) и 6 (В, Г) месяцев их культивирования при +10 °С

каждого сорта в двух независимых повторностях в период 2017–2019 гг. Обработку полученных результатов проводили с помощью пакета программ Statistica 10.0.

Результаты

При визуальном осмотре одноузловых черенков через 3 месяца после начала их культивирования при температуре +10 °С оказалось, что пазушные почки почти у 90% эксплантов сорта «П.П. Кончаловский» тронулись в рост, а на побегах развернулись по 1–2 листочка (рис. 1, А). При этом у большей части эксплантов развиваться начала только одна пазушная почка (табл. 1). У 10% эксплантов ростовых процессов не наблюдали. Причем у половины из них не наблюдалось и формирования раневого каллуса.

У всех одноузловых черенков сорта «Великая Победа» формировался раневой каллус, пазушные почки чуть больше, чем у 80% эксплантов также тронулись в рост (рис. 1, Б). Почти 20% эксплантов формировали только раневой каллус, тогда как развития пазушных почек у них не происходило (табл. 1).

Практически все одноузловые черенки сорта «Обманщица» оставались без изменений. Только у 5% эксплантов формировался раневой каллус, а у 10% трогалась в рост одна пазушная почка.

После пересаживания эксплантов на свежую питательную среду того же состава и переноса в стандартные условия культивирования, начавшие развиваться пазушные побеги сортов «П.П. Кончаловский» и «Великая Победа» тронулись в рост и через 1 месяц достигли в длину соответственно $51,36 \pm 9,81$ и $27,0 \pm 5,29$ мм, сформировав $3,82 \pm 0,4$ и $2,82 \pm 0,45$ узлов соответственно. При сравнении полученных результатов с данными, которые характеризуют рост пазушных побегов этих сортов при пассировании культуры без депонирования при пониженной температуре, оказалось, что воздействие пониженной температуры (+10 °С) в течение трех месяцев на одноузловые черенки сорта «Великая Победа» приводит к снижению длины формирующихся побегов. При этом число новых узлов, которые закладываются в процессе развития микропобегов, остается неизменным (рис. 2). У эксплантов сорта «Обманщица»

Таблица 1

Влияние сроков культивирования при пониженной температуре (+10 °С) на морфогенез одноузловых черенков сирени трех сортов

Особенности развития эксплантов Сорт	1 побег	2 побега	Без развития	Раневой каллус	Коэффициент размножения (K_p)
	морфогенез одноузловых черенков (%) при продолжительности культивирования (+10 °С)				
	3 месяца				
«П.П. Кончаловский»	66,7	20	13,3	93,3	0,56
«Великая Победа»	66,7	15	18,3	100	0,9
«Обманщица»	10	0	90	5	0
6 месяцев					
«П.П. Кончаловский»	45	45	10	90	0
«Великая Победа»	65	32,5	2,5	100	0
«Обманщица»	0	0	0	0	0
9 месяцев					
«П.П. Кончаловский»	45	45	10	90	0
«Великая Победа»	65	30	5	100	0
«Обманщица»	0	0	0	0	0

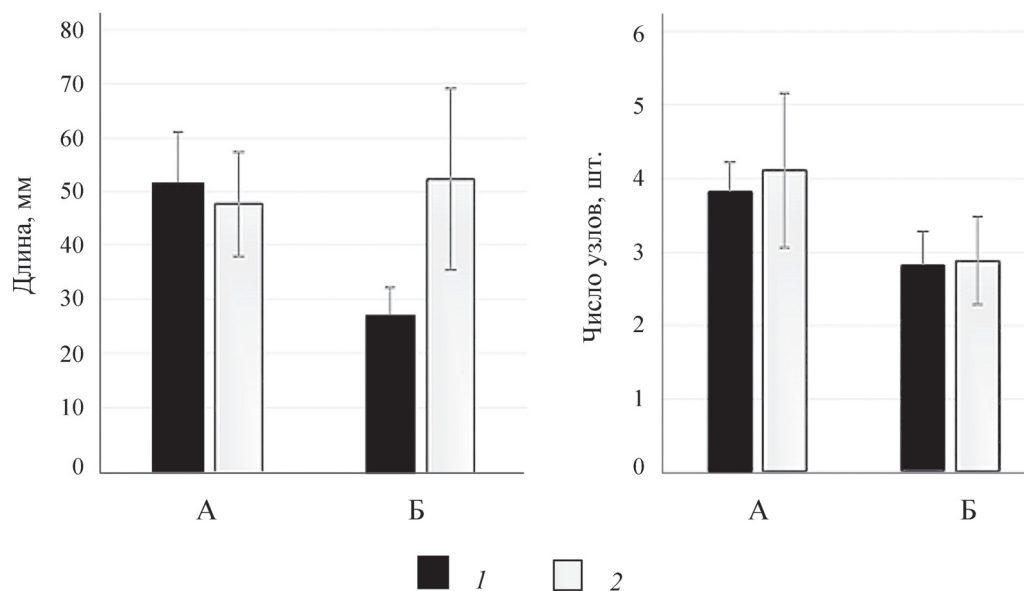


Рис. 2. Характеристики микропобегов (длина и число узлов) сортов сирени «П.П. Кончаловский» (А) и «Великая Победа» (Б), развившихся из пазушных почек одноузловых черенков после депонирования (1) в условиях медленно растущей культуры и без воздействия пониженной температуры (2)

дальнейшего развития пазушных побегов после снятия воздействия пониженной температурой не происходило.

Коэффициент размножения (K_p) сортов «П.П. Кончаловский» и «Великая Победа» после первого пассажа, следующего за переносом культуры в стандартные условия, составил 0,56 и 0,9 соответственно. При пассировании этих сортов в

стандартных условиях (при температуре +22 °С) $K_p = 1,3$.

Через 6 месяцев культивирования при +10 °С у эксплантов сортов «П.П. Кончаловский» и «Великая Победа» листья тронувшихся в рост побегов развернулись и приобрели красновато-фиолетовый оттенок с абаксиальной стороны (рис. 1 В, Г). Экспланты сорта «Обманщица» погибли.

Т а б л и ц а 2

Характеристика микропобегов сортов сирени «П.П.Кончаловский» и «Великая Победа» после 3 месяцев культивирования на трех средах при +10 °С

Сорт	Параметры	Состав среды		
		МС+1,5 мг/л 2-іР	МС+0,5 мг/л 2-іР	1/2 МС+1,5 мг/л 2-іР
«П.П. Кончаловский»	длина, мм	32,64±8,37	34,72±9,42	30,88±6,96
	число узлов	3,48±0,71	3,16±0,37	3,12±0,33
	средняя длина междоузлия, мм	9,67±2,71	11,17±3,4	10,05±2,62
«Великая Победа»	длина, мм	23,32±5,65	32,48±5,26	30±7,77
	число узлов	3,4±0,58	2,96±0,2	3,16±0,37
	средняя длина междоузлия, мм	7,05±2,01	11±1,79	9,57±2,59

Таблица 3

Коэффициент размножения (K_p) сортов сирени «П.П. Кончаловский» и «Великая Победа» на среде МС с добавлением 1,5 мг/л 2-іР и 20 г/л сахарозы после культивирования микропобегов в течение 3 месяцев при +10 °С на питательных средах различного состава

Сорт	Состав среды для депонирования при +10 °С			Среднее значение K_p
	МС 1,5 мг/л 2іР	МС 1,5 мг/л 2іР	1/2 МС 1,5 мг/л 2іР	
«П.П. Кончаловский»	1,358±0,025	1,375±0,042	1,343±0,03	1,358±0,032
«Великая Победа»	1,372±0,05	1,346±0,011	1,37±0,018	1,362±0,026

Через 1 месяц после переноса в стандартные условия культивирования вновь развившиеся пазушные побеги сорта «П.П. Кончаловский» оставались такой же длины, а через 2 месяца они погибали. Похожая картина наблюдалась и для регенерантов сорта «Великая Победа».

Через 9 месяцев культивирования при +10 °С одноузловые черенки сортов «П.П. Кончаловский» и «Великая Победа» изменили цвет – стали красно-фиолетовыми. Все остальные параметры оставались без изменений. При пересадке на свежую питательную среду того же состава прекращалось дальнейшее развитие пазушных почек эксплантов и культура погибала.

При анализе морфометрических данных, характеризующих микропобеги сортов «П.П. Кончаловский» и «Великая Победа», которые высаживали на питательные среды разного состава и культивировали при низкой положительной температуре, достоверных различий между их длиной, числом заложённых узлов и длиной междоузлий обнаружено не было (табл. 2).

На всех трех вариантах питательных сред 100% микропобегов обоих сортов сирени при их культивировании (+10 °С, 3 месяца) оставались жизнеспособными. После черенкования и переноса на свежую питательную среду из пазушных почек 86% одноузловых черенков сорта «Великая Победа» и 87,18% сорта «П.П. Кончаловский» развивались микропобеги. Причем примерно у половины одноузловых черенков развивались оба пазушных микропобега. При пассировании после 3 месяцев культивирования при +10 °С K_p обоих сортов в среднем составил 1,36. Причем явных различий между K_p сортов, экспланты которых были получены после культивирования на разных питательных средах, не было выявлено (табл. 3).

Обсуждение

Депонирование с использованием в качестве эксплантов наряду с микропобегами одноузловых черенков довольно успешно применяли для *Malus pumila* Mill. (Negri et al., 2000), *Prunus avium* L., гибрида *Castanea sativa* × *C. crenata* Siebold & Zucc и *Quercus petraea* (Mattuschka) Lieblein, *Q. robur* L. (Janeiro et al., 1995). В отличие от изученных нами сортов сирени, способность к развитию почек у одноузловых черенков вышеперечисленных видов со временем не снижалась, а сохранялась примерно на том же уровне, что и у микропобегов. У сирени сортов «Великая Победа» и «П.П. Кончаловский» ростовой потенциал пазушных почек одноузловых черенков сохранялся в течение 3 месяцев. Однако при переносе в стандартные условия культивирования (при температуре +22 °С) их K_p снижался примерно в 2 и 1,5 раза соответственно. Восстановление до обычного для данных сортов значения $K_p = 1,3$ (Чурикова, Криницына, 2019) наблюдали уже при втором и последующих пассажах в стандартных условиях (Криницына, устное сообщение). Более длительное культивирование одноузловых черенков в условиях пониженной температуры приводило к тому, что начавшие развиваться пазушные побеги останавливались в своем развитии, которое не возобновлялось даже при последующем переносе их в стандартные условия культивирования.

Изменения в составе питательной среды (содержание макросолей и концентрация 2-іР) при культивировании в условиях пониженной температуры микропобегов сортов сирени «П.П. Кончаловский» и «Великая Победа» практически не сказались на морфометрических характеристиках культивируемых микропобегов. Для некоторых

сортов сирени при стандартных условиях культивирования были получены похожие результаты: на питательных средах, содержание в которых 2-іР находилось в диапазоне 0,5–2,0 мг/л, статистически достоверных различий длинны формирующихся побегов также обнаружено не было (Молканова и др., 2010). Возможно, разница проявится при более длительном культивировании на указанных питательных средах, что было показано на примере других древесных культур (Ahmed et al., 2010, Ташматова и др., 2015, Arbeloa et al., 2017).

Период восстановления культуры после депонирования может зависеть от генотипа и/или состава питательной среды. Активное развитие пазушных побегов при пассировании микрочеренков указанных сортов наблюдается уже при первом пассаже культуры после вывода ее из условий замедленного роста. Причем K_p сортов «П.П. Кончаловский» и «Великая Победа» (1,358 и 1,362 соответственно) после инкубации при пониженной температуре не отличались от их K_p в обычных условиях культивирования, значения которых, как было показано нами ранее (Чурикова, Криницына, 2019), у указанных сортов были одинаковы и составляли 1,3. Возможные различия, вероятно, могут проявиться после увеличения срока депонирования, что было выявлено у некоторых других культур (Lambardi, Ozudogru, 2013, Arbeloa et al., 2017).

Таким образом, для сортов сирени «П.П. Кончаловский» и «Великая Победа» содержание культуры в условиях замедленного роста в течение 3 месяцев возможно, как с помощью одноузловых черенков, так и с использованием микропобегов. Причем для последних снижение концентраций солей или/гормона 2-іР практически не влияет на реализацию ростового потенциала культуры при последующем переносе ее в стандартные условия культивирования. По истечении указанного срока как одноузловые черенки, так и микропобеги оставались жизнеспособными, а их коэффициент размножения при дальнейшем черенковании не изменялся. Депонирование на более длительные сроки этих двух сортов с помощью одноузловых черенков оказалось нецелесообразным. Использование одноузловых черенков для создания медленно растущей культуры сорта «Обманщица» оказалось неперспективным.

Работа выполнена в рамках гостемы НИР «Изучение закономерностей морфогенеза и формирования элементов продуктивности под влиянием факторов внешней среды; разработка принципов морфофизиологической классификации растений» (АААА-А16-116021660105-3) а также поддержана «Проектом повышения конкурентноспособности ведущих российских университетов среди ведущих мировых научно-исследовательских центров: 5-топ 100» (Сеченовский университет).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

[REFERENCES]

- Бьядовский И.А. Влияние жасмоновой кислоты и пониженной температуры на возможность длительного хранения клоновых подвоев яблони в культуре *in vitro* // Садоводство и виноградарство. 2018. № 5. С. 30–37 [B»yadovskii I.A. Vliyanie zhasmonovoi kisloty i ponizhennoi temperatury na vozmozhnost' dlitel'nogo khraneniya klonovykh podvov yabloni v kul'ture *in vitro* // Sadovodstvo i vinogradarstvo. 2018. № 5. С. 30–37].
- Королева О.В., Молканова О.И. Сохранение и устойчивое воспроизводство представителей рода *Syringa L.* в культуре *in vitro* // Ботанические сады в XXI веке: сохранение биоразнообразия, стратегия развития и инновационные решения: сб. науч. матер. II Всерос. науч.-практ. конф. с международным участием, посвященной 20-летию образования Ботанического сада НИУ «БелГУ». Белгород, 2019. С. 162–165 [Koroleva O.V., Molkanova O.I. Sokhraneniye i ustoichivoye vosproizvodstvo predstavitelei roda *Syringa L.* v kul'ture *in vitro* // Botanicheskie sady v XXI veke: sokhraneniye bioraznoobraziya, strategiya razvitiya i innovatsionnye resheniya: sb. nauch. mater. II Vseross. nauch.-prakt. konf. s mezhdunarodnym uchastiem, posvyashchennoi 20-letiyu obrazovaniya Botanicheskogo sada NIU «BelGu». Belgorod: ID «Belgorod» NIU «BelGu». 2019. S. 162–165].
- Крючкова В.А. Биотехнологические приемы оптимизации микроклонального размножения и адаптации генотипов сирени (*Syringa vulgaris L.*) // Автореф. ... дис. канд. биол. наук. 2005 [Kryuchkova V.A. Biotekhnologicheskie priemy optimizatsii mikroklonal'nogo razmnozheniya i adaptatsii genotipov sireni (*Syringa vulgaris L.*) // avtoref. diss. na soiskanie stepeni k.b.n., 2005].
- Молканова О.И., Зинина Ю.М., Македонская Н.В., Брель Н.Г., Фоменко Т.И., Спиридович Е.В. Разработка биотехнологических приемов размножения сирени обыкновенной *Syringa L.* // Физиология и биохимия культурных растений. 2010. Т. 42. № 2. С. 117–124 [Molkanova O.I., Zinina Yu.M., Makedonskaya N.V., Brel' N.G., Fomenko T.I., Spiridovich E.V. Razrabotka biotekhnologicheskikh priemov razmnozheniya sireni

- obyknovennoi Syringa L. // Fiziologiya i biokhimiya kul'turnykh rastenii. 2010. T. 42. № 2. S. 117–124].
- Полякова Т., Балмышева Н. Время сирени. М., 2007. 232 с. [Polyakova T., Balmysheva N. Vremya sireni. M., 2007. 232 s.].
- Ташматова Л.В., Джафарова В.Е., Высоцкий В.А. Клональное микроразмножение и депонирование груши *in vitro*. Методические рекомендации. Орел, 2015. 18 с. [Tashmatova L.V., Dzhafarova V.E., Ysotskii V.A. Klonal'noe mikrorazmnozhenie i deponirovanie grushi in vitro. Metodicheskie rekomendatsii. Orel: VNII SPK. 2015. 18 s.].
- Чурикова О.А., Криницына А.А. Некоторые особенности развития сирени в медленно растущей культуре *in vitro* // Изв. Уфимского научного центра РАН. 2018. Т. 3. № 5. С. 94–99 [Churikova O.A., Krinitsyna A.A. Nekotorye osobennosti razvitiya sireni v medlenno rastushchei kul'ture in vitro // Izv. Ufimskogo nauchnogo tsentra RAN. 2018. T. 3. № 5. S. 94–99].
- Чурикова О.А., Криницына А.А. Изучение влияния состава питательной среды и тидиазурина на реализацию морфогенетического потенциала различных сортов сирени в культуре *in vitro* // Бюл. МОИП. Отд. биол. 2019. Т. 124. Вып. 5. С. 55–64 [Churikova O.A., Krinitsyna A.A. Izuchenie vliyaniya sostava pitatel'noi sredy i tidiazurona na realizatsiyu morfogeneticheskogo potentsiala razlichnykh sortov sireni v kul'ture in vitro // Byul. MOIP. Otd. Biol. 2019. T. 124. Vyp. 5. S. 55–64].
- Ahmed M., Anjum M.A., Sahah A.H.S., Hamid A. In vitro preservation of Pyrus germplasm with minimal growth using different temperature regimes // Pak. J. Bot. 2010. Vol. 42. № 3. P. 1639–1650.
- Arbeloa A., Marin J.A., Andreu P., Garcia E., Lorente P. In vitro conservation of fruit trees by slow growth storage // Acta Hort. 2017. Vol. 1155. P. 101–106.
- Barlass M., Skene K.G.M. Long-term storage of grape in vitro // Plant Genet. Resources Newsletter. 1983. Vol. 53. P. 19–21.
- Cha-Um C., Kirdmanee C. Minimal growth of in vitro cultures for preservation of plant species // Fruit, vegetable and cereal science and biotechnology. 2007. Vol. 1. № 1. P. 13–25.
- Castillo N.R.F., Bassil N.V., Wada S., Reed B.M. Genetic stability of cryopreserved shoot tips of Rubus germplasm // In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant. 2010. Vol. 46. P. 246–256.
- Da Silva D.P.C., Ozudogru E.A., Dos Reis M.V., Lambardi M. In vitro conservation of ornamental plants // Ornamental Horticulture. 2018. Vol. 24. № 1. P. 28–33.
- Gabryszewska E. Effect of various levels of sucrose, nitrogen salts and temperature on the growth and development of Syringa vulgaris L. shoots in vitro // J. Fruit and Ornamental Plant Research. 2011. Vol. 19. № 2. P. 133–148.
- Galzy R. Recherches sur la croissance de Vitis rupestris scheele sain et court noué cultivée in vitro à différentes températures // Ann. Phytopathol. 1969. Vol. 1. P. 149–166.
- Gardi T., Micheli M., Piccioni E., Sisani G., Standardi A. Cold storage of micropropagated shoots of some fruit species // Italus Hortus. 2001. Vol. 8. № 4. P. 32–40.
- Gianni S., Sottile F. In vitro storage of plum germplasm by slow growth // Hort. Sci., 2015. Vol. 42 (2). P. 61–69.
- Janeiro L.V., Vieitez A.M., Ballester A. Cold storage of in vitro cultures of wild cherry, chestnut and oak // Ann. Sci. For. 1995. Vol. 52. P. 287–293.
- Lambardi M., Benelli C., De Carlo A., Fabbri A., Grassi S., Lynch P.T. Medium- and long-term in vitro conservation of olive germplasm (*Olea europaea* L.) // Acta Hort. 2002. Vol. 586. P. 109–112.
- Lambardi M., Ozudogru E.A. Advances in the safe storage of micropropagated woody plants at low temperature // Acta Hort. 2013. Vol. 988. P. 29–42.
- Lundergan C., Janick J. Low temperature storage of in vitro apple shoots // Hort. Sci. 1979. Vol. 14. № 4. P. 514.
- Marino G., Rosati P., Sagrati F. Storage of in vitro cultures of Prunus root stocks // Plant Cell Tissue Organ Culture. 1985. Vol. 5. P. 73–78.
- Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiol. Plant. 1962. Vol. 15. P. 473–497.
- Negri V., Tosti N., Standardi A. Slow-growth storage of single node shoots of apple genotypes // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 2000. Vol. 65. P. 159–162.
- Pierik R.L.M., Steegmans H.H.M., Elias A.A., Stiekema O.T.J., van der Velde A.J. Vegetative propagation of Syringa vulgaris L. in vitro // Acta Horticulturae. 1988. Vol. 226. P. 195–204.
- Peyvandi M., Noormohammadi Z., Banihashemi O., Farahani F., Majd A., Hosseini-Mazinai M., Sheidai M. Molecular analysis of genetic stability in long-term micropropagated shoots of *Olea europaea* L. (cv. Dezful) // Asian Journal of Plant Sciences. 2009. Vol. 8. № 2. P. 146–152.
- Sedlac J., Zidova P., Paprstein F. Slow growth in vitro conservation of fruit crops // Acta Horticulturae. 2019. Vol. 1234. P. 119–123.
- Withers L.A. 4. In-vitro conservation // Biological Journal of the Linnean Society. 1991. Vol. 43. N 1. P. 31–42.
- Withers L.A. Long-term preservation of plant cells, tissues and organs // Oxford Surveys of Plant Molecular and Cell Biology. 1987. Vol. 4. P. 221–272.

**EVALUATION OF THE POSSIBILITY OF USING DIFFERENT
EXPLANTS TYPE AND MEDIUM COMPOSITION FOR DEVELOPMENT
OF LILAC SLOW GROWTH CULTURE *IN VITRO***

O.A. Churikova¹, A.A. Krinitsina²

Slow growth storage *in vitro* is an alternative way of preservation of genetic resources of wild plant species and elite varieties. Its development is one of important stages while creation and maintaining of alive collections *in vitro*. Maintenance of potential growth capacity in slow-growth cultures depends on genotype, type of explant and plant medium composition as well. The storage of lilac cv. “P.P. Konchalovsky” and “Velikaya Pobeda” during 3 months is possible using single-node cuttings and microshoots. Decreasing of salts or hormone N6-(Δ 2-Isopen-tenyl) adenine (2-iP) concentrations during microshoots cultivation practically doesn't affect the potential growth capacity. At the end of this period single-node cuttings and microshoots as well remain alive. During subsequent grafting their increase ratio doesn't change. More long-term storage of these cultivars with single-node cuttings turned out to be inexpedient. Using of single-node cuttings for development of slow growth culture for cv. “Obmanschitsa” turned out to be inexpedient.

Key words: lilac, single-node cuttings, microshoots, slow growth culture, *in vitro*.

Acknowledgement. The study was supported by scientific program “The study of regularities of morphogenesis and formation of productivity elements under the influence of environment factors; elaboration of principles of morphophysiological classification of plants” (AAAA-A16-116021660105-3) and by the Russian Academic Excellence Project 5-100 (Sechenov University).

¹ Churikova Olga Albertovna, Department of High plants, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Leninskiye gory 1-12, Moscow, 119234, Russia (ochurikova@yandex.ru); ² Krinitsina Anastasiya Aleksandrovna, Department of High plants, Faculty of Biology, Pharmaceutical Natural Science Department, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (krinitsina@msu-botany.ru).